Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionswesen
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VERHALTEN VON α-AMYLASE UND VERSCHIEDENER SUBSTANZEN DES KOHLENHYDRAT-STOFFWECHSELS IM SERUM NACH HYDROXYÄTHYLSTÄRKEINFUSIONEN UNTERSCHIEDLICHEN MOLEKULARGEWICHTES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Dr. med. dent. Hussein Rajab
aus Yabroud (Syrien)

1983

Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionswesen
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VERHALTEN VON α-AMYLASE UND VERSCHIEDENER SUBSTANZEN DES KOHLENHYDRAT-STOFFWECHSELS IM SERUM NACH HYDROXYÄTHYLSTÄRKEINFUSIONEN UNTERSCHIEDLICHEN MOLEKULARGEWICHTES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Dr. med. dent. Hussein Rajab
aus Yabroud (Syrien)

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. W. Frommhold
1. Berichterstatter:	Professor Dr. V. Hempel
2. Berichterstatter:	Professor Dr. W. Heller

Meiner Frau und meinen Kindern
gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung	1
2.	Materialien und Methoden	6
2.1	Quantitative Bestimmung von α-Amylase im Serum	7
2.2	Bestimmung von Pyruvat und Lactat	8
2.3	Bestimmung von Glucose	8
2.4	Bestimmung von Fructose-6-phosphat	9
2.5	Bestimmung von Glucose-6-phosphat	9
2.6	Bestimmung von Phosphoenolpyruvat und D-Glycerat-2-phosphat (2-PG)	13
2.7	Bestimmung von 2,3-Diphosphoglycerinsäure (2,3-DPG)	17
2.8	Bestimmung von Maltose	19
3.	Untersuchungen und Ergebnisse	24
3.1	Patienten und Blutentnahme	24
3.2	Graphische Darstellungen (Diagramme)	25
4.	Diskussion	49
5.	Zusammenfassung	53
6.	Anhang (Tabellen)	54
7.	Literatur	65

1 EINLEITUNG

Vorliegende Arbeit befaßt sich mit den Wirkungen verschiedener Hydroxyäthylstärkepräparationen auf den menschlichen Organismus.

Stärke ist ein Polysaccharid (6).
Man unterscheidet "pflanzliche" Stärke (Amylum) und "tierische" Stärke (Glykogen).
Pflanzliche Stärke besteht zu 20% aus Amylose und zu 80% aus Amylopektin. Sie findet sich besonders reichlich in Samen (z.B. Getreide) und Knollen (z.B. Kartoffeln) und ist dort in Form von Stärkekörnern gelagert (7).
Tierische Stärke (Glykogen) findet sich als Reservestoff in der Leber, im Muskel und in vielen anderen Zellen. Im chemischen Aufbau entspricht das Glykogen weitgehend dem Amylopektin, nur ist es stärker verzweigt. Das Molekulargewicht ist hoch (Muskelglykogen 1 000 000, Leberglykogen 16 000 000 $\hat{=}$ ca. 10^5 Glucoseeinheiten). Dennoch sind diese Glykogene wasserlöslich.
Amylopektin ist aus α-glykosidisch verbundener Glucose aufgebaut. Das Molekül ist verzweigt. An der Hauptkette, die 1-4α-glykosidische Bindungen aufweist, sitzen über 1-6-Bindungen verknüpfte Seitenketten, an denen nochmals Seitenketten ansetzen können. Jeder 3. - 5. Glucoserest der Hauptkette trägt eine Seitenkette.

Die Stärke wird durch das Enzym Amylase gespalten.
Die α-Amylase spaltet 1-4α-glykosidische Bindungen der Amylose, des Amylopektins und des Glykogens. Zunächst entstehen höhermolekulare Polysaccharid-Bruchstücke, die als Dextrine bezeichnet werden. Der Abbau geht jedoch bis zur Maltose bzw. Isomaltose, d.h. zu den Disaccharid-Bruchstücken.
Aus ungeradzahligen Oligosacchariden kann auch Glucose entstehen.

Amylase wird durch Chlor, Bromid, Nitrat u.a. aktiviert und besitzt ein pH-Optimum von 6,9. Endprodukte des Amylaseabbaues (Maltose, Isomaltose) und anderer Disaccharide werden durch Disaccharidasen gespalten:

$$\text{Stärke} \xrightarrow{\alpha\text{-Amylase}} \text{Dextrine} \xrightarrow[\text{Glukosidase}]{\alpha\text{-Amylase}} \begin{matrix} \nearrow \text{Isomaltose} \searrow \\ \searrow \text{Maltose} \nearrow \end{matrix} \text{Glucose} \quad (8).$$

Die Nachteile herkömmlicher Plasmaexpander, insbesondere des Dextrans, wie z.B. allergische Eigenschaften, Erhöhung der Blutungsgefahr etc., haben die Suche nach einem besseren Plasmaexpander intensiviert.
Amylopektin, eine Komponente der Stärke, ist biologisch kompatibel und weitgehend frei von unerwünschten Nebenwirkungen, jedoch wird es schnell von der Amylase abgebaut. Diese ungünstige Eigenschaft wird eliminiert, indem man am 2. oder 6. Kohlenstoffatom der Glucose-Untereinheit eine Hydroxyäthylgruppe anfügt (2). Die resultierende Hydroxyäthylstärke wurde ürsprünglich von Wiedersheim als stabil in Lösung, als nicht toxisch, nicht allergisch und als wirksamer Plasmaexpander bei Tieren beschreiben (1).

Hydroxyäthylstärke (HÄS) ist ein seit 1974 in klinischer Anwendung befindlicher Plasmaexpander (4) und wird durch Hydroxyäthylierung von Amylopektinhydrolysaten gewonnen (5). Die 2-Hydroxyäthylgruppe steht in 2-Position der Glucose. Das mittlere Molekulargewicht der abgewandelten Stärkemoleküle in der Infusionslösung liegt bei 450 000 (Plasmasteril®, Hersteller: Fresenius AG, 6380 Bad Homburg).
Wie vorher erwähnt wurde,wird sie im Blut von der α-Amylase in kleinere Bruchstücke zerlegt. Bei Unterschreiten der glomerulären Filtrationsgröße wird HÄS renal ausgeschieden.

HÄS scheint hinsichtlich der Dauer ihres Volumeneffektes den Dextranen überlegen zu sein.
Die lange Wirkdauer ist vorwiegend auf den durch Hydroxyäthylgruppen verzögerten Abbau von HÄS durch α-Amylase

zurückzuführen (3).
Dabei kommt es zu Komplexbildung zwischen Amylasemolekülen des Serums und den HÄS-Molekülen. Die so gebildeten Makromoleküle können glomerulär nicht filtriert werden, weshalb die Amylaseclearence abnimmt (9).
Versuche an Kaninchen haben ergeben, daß nach 1 Jahr noch 0,5 mg HÄS pro ml Serum gefunden werden, während die Werte bei Dextranen bereits nach 2 Monaten die Nachweisgrenze erreichten (3). Bei Versuchen an gesunden Freiwilligen war Dextran nach 4 Wochen nicht mehr nachweisbar, während HÄS nach 17 Wochen noch über 1% seines Ausgangswertes lag (10).
Trotz ihres hohen Molekulargewichtes hat HÄS ähnliche rheologische Eigenschaften wie niedermolekulare Dextrane, da ihr Molekül kugelförmig ist (11).
Vorteil von HÄS gegenüber Dextranen scheint die geringere Frequenz von allergischen Nebenwirkungen um den Faktor 10 (12, 13) zu sein und daß das HÄS kaum mit der Blutgerinnung interferiert (14). Außerdem ist HÄS in Lösung ohne Ausflockung stabil (14).
Als Nebenwirkungen wurden von C. Korin Lindner und H. Hubert lediglich ein Fall von Gesichtsrötung und ein leichter Schüttelfrost angegeben (15).
Den Anforderungen an klinische Plasmaersatzmittel, die eine längere intravasale Persistenz beinhaltet, jedoch ohne Gewebsspeicherreaktion aus dem Körper ausgeschieden werden sollten, genügt HÄS nicht vollkommen (16).
Nach HÄS-Infusionen finden sich intrazelluläre Speichervakuolen in Stern- und Leberzellen, interstitiellen Histiozyten und den Gallengangsepithelien (17). Ebenso verursacht sie ein Anschwellen und eine Vakuolisierung der Nierentubuli bei nur geringer Beeinträchtigung der Nierenfunktion (16). Bei Ratten fand sich eine Speicherung in Niere, Leber und Milz und in sehr geringem Maße sogar im Herzen (13). Dies stellt einen Nachteil der HÄS als Plasmaexpander dar (18).

Die α-Amylase des Speichels und des Pankreas sind identische Enzyme (8). Die beim Gesunden vorhandene Serumamylase stammt jedoch zum überwiegenden Teil aus der Leber (19).
Auch bei der Sekretion der Pankreasenzyme α-Amylase und Lipase in den Ductus pankreaticus wird ständig ein kleiner Teil an das Blut abgegeben. Bei Schädigung des Pankreas (Entzündung) kann dieser Anteil größer und die Konzentration der Serum-Amylase und Serum-Lipase erhöht sein (8).

Da sich die HÄS noch nicht lange genug in der klinischen Erprobung befindet, um endgültige Aussagen über ihre Vorteile bzw. Nachteile gegenüber Dextranen und anderen Plasmaersatzmitteln zu machen, ist es notwendig, verschiedene Blutparameter nach Zugabe von HÄS zu untersuchen. Von besonderem Interesse ist dabei die Erhöhung der Amylasewerte, die Hyperamylasämie.
Die Hyperamylasämie ist von großer diagnostischer Bedeutung, da sie auch bei verschiedenen Erkrankungen wie z.B. Pankreatitis, Parotitis, ektope Gravidität, Darmperforation, hohem Ileus und u.a. Nierenversagen vorkommen kann (20).
Unkenntnis über Amylase-Erhöhung nach Zugabe von HÄS könnte dabei leicht auf eine falsche Fährte leiten.
Das Ausmaß der Hyperamylasämie ist u.a. abhängig von der intrvasalen Verweildauer des verwendeten HÄS-Präparates (9).

Untersucht wurden in der folgenden Arbeit zwei verschiedene HÄS-Präparationen, nämlich 6%ige HÄS in isotonischer NaCl-Lösung mit einem mittleren Molekulargewicht von 450 000 und einem Substitutionsgrad von 0,6 - 0,8 (Plasmasteril®) und 6%ige HÄS mit einem Molekulargewicht von 40 000 und einem Substitutionsgrad von 0,5 - 0,55 (Expafusin®, Hersteller: Pfrimmer & Co, Pharmazeutische Werke Erlangen GmbH).
Dabei sollten untersucht werden, ob sich Unterschiede in der Amylase-Erhöhung sowie in verschiedenen anderen Blut-

parametern in den folgenden 72 Stunden nach der Zugabe von Expafusin® bzw. Plasmasteril® ergeben.
Untersucht wurden:
Amylase, Pyruvat, Lactat, Glucose, Glucose-6-phosphat (G-6-P), Fructose-6-phosphat (F-6-P), Phosphoenolpyruvat (PEP), D-Glycerat-2-phosphat (2-PG), 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) und Maltose.
Da das Endprodukt des HÄS-Abbaus Glucose darstellt, welche in die Glykolyse eingespeist wird, erschien es interessant, zu untersuchen, ob ein unterschiedlicher Blutzuckerspiegel oder andere Metaboliten des Glucoseabbaus als Folge der HÄS-Infusion ansteigen würden und ob der Anstieg nach Zugabe von niedermolekularer (Expafusin®) bzw. großmolekularer HÄS (Plasmasteril®) zu beobachten sein würde.

2 MATERIALIEN UND METHODEN

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung ist zunächst, zu prüfen, ob die Aktivität der α-Amylase nach isovolämischer Infusion von HÄS mit einem mittleren Molekulargewicht von 40 000 und von 450 000 unterschiedlich steigt.
Das zweite Anliegen ist, den Zusammenhang zwischen der Gabe von HÄS und folgenden Blutparametern,
Pyruvat, Lactat, Glucose, Glucose-6-phosphat, Fructose-6-phosphat, Phosphoenolpyruvat, D-Glycerat-2-phosphat, 2,3-Diphosphoglycerat und Maltose,
zu identifizieren.
Weiterhin wurde der Rückgang der α-Amylase nach ihrem Anstieg aufgezeichnet.

Zuerst erfolgte die Blutprobenentnahme für die laboranalytischen Bestimmungen vor und nach der Infusion von 500 ml HÄS und jeweils 24 und 72 Stunden nach der Infusion.
Sofort nach der Blutentnahme werden zu

3 ml Vollblut	3 ml $HClO_4$	(1 n)	für Pyruvat-Bestimmung,
1 ml Vollblut	2 ml $HClO_4$	(0,6 n)	für Lactat-Bestimmung,
1 ml Vollblut	5 ml $HClO_4$	(0,33 n)	für Glucose-Bestimmung,
1 ml Vollblut	5 ml $HClO_4$	(0,6 n)	für G-6-P und F-6-P-Bestimmung,
1 ml Vollblut	3 ml $HClO_4$	(0,6 n)	für PEP und 2-PG-Bestimmung,
1 ml Vollblut	3 ml Trichloressigsäure	(8%)	für 2,3-DPG-Bestimmung,
1 ml Vollblut	4 ml $HClO_4$	(0,4 n)	für Maltose-Bestimmung

zugesetzt.
Anschließend werden die einmaligen Röhrchen mit Parafilm verschlossen und kräftig geschüttelt. Diese enteiweißten Blutproben werden zur weiteren Verarbeitung sofort in ein Eisbad gestellt.

2.1 Quantitative Bestimmung von α-Amylase im Serum (22)

Es wird nach dem Phadebas Amylase-Test (mit BSA Bovine Serum Albumin) Pharmacia Diagnostics AB verfahren.

Prinzip

Das Testsubstrat ist ein blau gefärbtes, durch Quervernetzung wasserunlösliches Stärkepolymer. Dieses wird von α-Amylase zu wasserlöslichen blauen Fragmenten hydrolisiert. Die Absorption der blauen Lösung ist direkt von der Aktivität der α-Amylase in der Patientenprobe abhängig.
Nach Gerinnung des gesammelten Blutes wird das Serum durch Zentrifugieren getrennt. Gerinnungshemmende Mittel (Citrat, Fluorid und EDTA), die Calcium-Ionen (Ca^{2+}) binden, werden nicht verwendet.
Eine Berührung der Proben oder des Materials mit Speichel oder Schweiß wird streng vermieden.

Durchführung

1. Es wird eine Leerwertprobe mit 4,2 ml bzw. 4,05 ml Wasser bei jedem Testgang mitgeführt.
2. In Zentrifugenröhrchen werden 200 µl Serum pipettiert und allen Röhrchen 4,0 ml destilliertes Wasser zugesetzt. Alle Röhrchen werden 5 Minuten im Wasserbad bei 37°C vorinkubiert.
3. In jedes Röhrchen wird mit Hilfe einer Pinzette eine Tablette (Testsubstrat) gegeben und sofort 10 Sekunden lang kräftig mittels Schüttelmischer gemischt und wieder ins Wasserbad gestellt.
4. Die Teströhrchen werden genau 15 Minuten im Wasserbad bei 37°C ± 0,5°C inkubiert.
5. Genau 15 Minuten nach Tablettenzugabe wird die Reaktion durch Zusatz von 1,0 ml 0,5 M (2%) NaOH abgestoppt, anschließend wird sorgfältig gemischt.
6. Es wird mindestens 5 Minuten bei 1500 x g zentrifugiert.

Der blaue Überstand wird in eine Küvette pipettiert.

7. Die Absorption (Extinktion) des Überstandes wird bei 620 nm gegen destilliertes Wasser gemessen (1 cm Schichtdicke).
8. Von den gemessenen Werten wird die Extinktion des Leerwertes substrahiert.
9. Die α-Amylase-Aktivität für die Serum-Proben werden direkt aus der Standardkurve abgelesen.
   (Jeder Testpackung ist eine Standardkurve beigelegt, durch die die Extinktionswerte der Proben direkt in U/l umgesetzt werden.)

Die Qualitätskontrolle erfolgte durch die Anwendung von Phadedas-Referenz-Serum.
Die Normalwerte werden für Serumproben mit 36 - 201 U/l (21) angegeben.

2.2 Bestimmung von Pyruvat und Lactat

Die Pyruvat-Bestimmung erfolgte nach die industriell hergestellten "Test-Combination-Pyruvat" von der Firma Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica (UV-Test) (23).
Die Bestimmung des Lactats erfolgte nach der "Test-Combination-Lactat" von der Firma Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica (UV-Test) (24).

2.3 Bestimmung von Glucose

Die Bestimmung der Glucose-Werte erfolgte nach der GOD-Perid-Methode nach Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica (25).

2.4 Bestimmung von Fructose-6-phosphat (26)

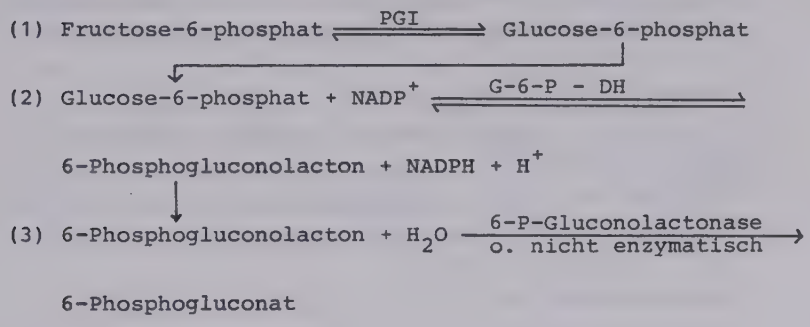
Prinzip

Fructose-6-phosphat wird mit Phosphoglucoisomerase in Glucose-6-phosphat übergeführt und dann bestimmt wie Glucose-6-phosphat (s. unten).

2.5 Bestimmung von Glucose-6-phosphat (26)

Prinzip

Glucose-6-phosphat wird durch Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase zu 6-Phosphogluconolacton dehydriert, welches spontan in Gluconat-6-phosphat übergeht. Dieses wird mit dem Spektralphotometer bei 340, 334 nm gemessen.



Notwendige Reagentien

1. Perchlorsäure, p.a.: Dichte = 1,67 ca. 70% (w/w)
2. Kaliumcarbonat, K_2CO_3, p.a.
3. Triäthanolaminhydrochlorid
4. Natronlauge, p.a., 2 N
5. Magnesiumchlorid, $MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$, p.a.
6. Nicotinamidadenindinucleotidphosphat, NADP als Natriumsalz NADP-Na_2H: Handelspräparate.

7. Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, G-6-P - DH
   aus Hefe, Suspension in 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung, $\geq$ 140 U/mg (25°C), Handelspräparate.
8. Phosphoglucose-Isomerase, PGI
   aus Hefe, Kristallsuspension in 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung, $\geq$ 350 U/mg (25°C), Handelspräparate.

Herstellung der Lösungen

Alle Lösungen mit frisch bereitetem doppelt destilliertem Wasser herstellen.

1. Perchlorsäure (0,6 N):
   7,7 ml $HClO_4$ (Dichte = 1,67) mit Wasser ad 150 ml verdünnen.
2. Kaliumcarbonat (ca. 5 M):
   ca. 69 g K_2CO_3 mit Wasser ad 100 ml lösen.
3. Triäthanolamin-Puffer (0,4 M, pH = 7,6):
   18,6 g Triäthanolaminhydrochlorid in etwa 200 ml Wasser lösen, 18 ml 2 N NaOH hinzufügen und mit Wasser auf 250 ml anfüllen.
4. Magnesiumchlorid (0,5 M):
   10 g $MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$ mit Wasser ad 100 ml lösen.
5. Nicotinadenindinucleotidphosphat (ca. 20 mM NADP):
   20 mg NADP-NaH_2 in 1 ml Wasser lösen.
6. Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, G-6-P - DH
   (ca. 0,25 mg Protein/ml):
   Enzymsuspension mit 1 - 5 mg Protein/ml mit 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung entsprechend verdünnen.
7. Phosphoglucose-Isomerase, PGI (ca. 0,2 mg Protein/ml):
   Kristallsuspension mit 2 - 10 mg Protein/ml mit 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung entsprechend verdünnen.

Arbeitsweise

Enteiweißung von Vollblut:
Zentrifugengläser mit Glasrührer und 5 ml Perchlorsäure-Lösung (I) wiegen. Etwa 1 ml Blut zufließen lassen, sofort mischen. Menge durch erneute Wägung exakt bestimmen. 10 Minuten bei 3000 g zentrifugieren. Sediment in 1 ml Perchlorsäure-Lösung (I) + 1 ml Wasser aufwirbeln und erneut zentrifugieren. Überstände vereinigen, mit Kaliumcarbonat-Lösung (II) auf ca. pH = 3,5 einstellen (Indikatorpapier). Auf 8 ml Endvolumen bringen, im Eisbad etwa 15 Minuten stehen lassen, dann vom Niederschlag abdekantieren oder abpipettieren. Aliquot des Überstandes zur Messung einsetzen.

Bestimmungsansatz

Meßstrahlung: 340 nm, Schichtdicke: 1 cm, Testvolumen: 2,05 bzw. 2,07 ml. Messung gegen Vergleichsküvette mit Puffer (III).
In Blutextrakten können G-6-P und F-6-P wegen des geringen Gehaltes nur bei 340 nm und einer Schichtdicke von 4 cm gemessen werden. Hierfür Ansatz verdreifachen, passende Blende verwenden (nicht zu hoch!). Berechnungsformel entsprechend ändern.

In die Küvette pipettieren:			Konzentration im Test
Puffer	(III)	1,00 ml	0,2 M
Probe(Extrakt)		1,00 ml	bis 0,15 mM G-6-P u. F-6-P
NADP-Lösung	(V)	0,02 ml	0,2 mM
$MgCl_2$-Lösung	(IV)	0,02 ml	5 mM
mischen, Küvetteninhalt auf Raumtemperatur kommen lassen, E_1 zweimal im Abstand von 3 min messen.			
G-6-P - DH-Suspension	(VI)	0,01 ml	ca. 1,2 g/ml ≙ ca. 170 U/l
mischen, nach Ablauf der Reaktion (3 - 5 min nach Enzymzugabe, je nach G-6-P-Konzentration) Endextinktion E_2 im Abstand von 3 min zweimal ablesen. Die Änderungen der Extinktionen innerhalb 3 min sind normalerweise gering und können gegenüber der Extinktionsdifferenz $\Delta E = E_2 - E_1$ vernachlässigt werden. Anderfalls entsprechend korrigieren.			
PGI-Suspension	(VII)	0,02 ml	ca. 2 g/ml ≙ ca. 700 U/l
mischen, nach Ablauf der Reaktion (3 - 5 min) Endextinktion E_3 zwei- oder mehrmals im Abstand von 3 min ablesen. $E_2 - E_1 = \Delta E_{G-6-P}$; $E_3 - E_2 = \Delta E_{F-6-P}$			

Berechnung

Die Reaktion verläuft unter den angegebenen Bedingungen stöchiometrisch. Daraus ergeben sich folgende Beziehungen pro ml Probelösung:

Meßstrahlung: 340 nm

für G-6-P : $c = \Delta E \cdot 0{,}336$ (µMol/ml)

für F-6-P : $c = \Delta E \cdot 0{,}333$ (µMol/ml)

Die Verdünnung durch Extraktion und Neutralisation wird durch Multiplizieren des Ergebnisses mit dem Faktor

$$F_{Blut} = \frac{8 \cdot D}{W}$$

berücksichtigt (W = Gewicht von Blut, D = spezifisches Gewicht von Blut). Man erhält demgemäß das Ergebnis pro ml Blut.

2.6 Bestimmung von Phosphoenolpyruvat und D-Glycerat-2-phosphat (2-PG) (26)

Prinzip

(1) $\text{2-PG} \underset{}{\overset{\text{Enolase}}{\rightleftharpoons}} \text{PEP} + H_2O$

(2) $\text{ADP} + \text{PEP} \xrightarrow[\text{kinase}]{\text{Pyruvat-}} \text{ATP} + \text{Pyruvat}$

(3) $\text{Pyruvat} + \text{NADPH} + H^+ \xrightarrow[\text{dehydrogenase}]{\text{Lactat-}} \text{Lactat} + NAD^+$

Die Oxidation des NADH ist den Substratumsätzen proportional und wird photometrisch bei 340 nm gemessen.

Notwendige Reagentien

1. Triäthanolhydrochlorid
2. Äthylendiamintetraacetat, EDTA
   als Dinatriumsalz EDTA-Na_2 · 2 H_2O
3. Natronlauge, 2 N
4. Reduziertes Nicotinamidadenindinucleotid, NADH
   als Dinatriumsalz NADH-Na_2; Handelspräparate.
5. Adenindiphosphat
   als Dinatriumsalz ADP-Na_2; Handelspräparate.
6. Magnesiumsulfat, $MgSO_4$ · 7 H_2O, p.a.
7. Kaliumchlorid KCl, p.a.
8. Perchlorsäure, p.a., 70% (w/w), Dichte = 1,67
9. Kalilauge, 2 N
10. Lactat-Dehydrogenase, LDH
    aus Kaninchenskelettmuskel kristallisiert, Suspension in 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung; $\geq$ 550 U/mg (25°); Handelspräparate.
11. Pyruvat-Kinase, PK
    aus Kaninchenskelettmuskel kristallisiert, Suspension in 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung; $\geq$ 200 U/mg (25°); Handelspräparate.
12. Enolase
    aus Kaninchenskelettmuskel kristallisiert, Suspension in 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung; $\geq$ 40 U/mg (25°); Handelspräparate.

Herstellung der Lösungen

Es wird nur frisch bidestilliertes Wasser verwendet.

1. Triäthanolamin-Puffer (0,5 M; pH = 7,6; 5 mM EDTA):
   23,3 g Triäthanolaminhydrochlorid in ca. 200 ml Wasser lösen, 0,47 g EDTA-Na_2H_2 · 2 H_2O hinzufügen, mit ca. 20 ml 2 N NaOH pH = 7,6 einstellen, mit Wasser ad 250 ml auffüllen.

2. Reduz. Nicotinamidadenindinucleotid (ca. 6 mM β-NADH):
   10 mg NADH-Na_2 in 2 ml Wasser lösen.
3. Lactat-Dehydrogenase, LDH (0,5 mg Protein/ml):
   50 ml LDH + 450 ml H_2O
4. Adenindiphosphat (125 mM ADP):
   68 mg ADP-Na_2 in 1 ml Wasser lösen.
5. Magnesiumsulfat (0,5 M):
   12,3 g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ mit Wasser ad 100 ml lösen.
6. Kaliumchlorid (3,7 M):
   27,6 g KCl mit Wasser ad 100 ml lösen.
7. Pyruvat-Kinase, PK (0,5 mg Protein/ml):
   100 ml PK + 300 ml H_2O
8. Enolase (0,5 mg Protein/ml):
   100 ml Enolase + 300 ml H_2O
9. Perchlorsäure (0,6 N):
   5,2 ml 70%ige Perchlorsäure mit Wasser ad 100 ml verdünnen.

Arbeitsweise

Enteiweißung:
Zentrifugenröhrchen mit 3 ml Perchlorsäure (IX) wiegen. Etwa 1 ml Blut aus der Kanüle direkt einlaufen lassen und schütteln oder etwa 2 g des pulverisierten gefrorenen Gewebepulvers hinzufügen und gut mischen. Proberöhrchen wiegen und aus der Gewichtszunahme das Volumen des zugefügten Blutes (Dichte des Vollblutes 1,06) oder die Gewebemenge errechnen. Nach 10 Minuten Stehen im Eis 15 Minuten bei 3000 g oder besser 5 Minuten bei 10 000 g zentrifugieren. 2 ml Überstand unter Eiskühlung und gutem Mischen (Magnetrührer) auf pH = 2,5 bis 5,0 (pH-Meter oder Spezialindikatorpapier) mit ca. 400 ml 2 N KOH neutralisieren. 10 Minuten unter gelegentlichem Schütteln in Eis stehen lassen und den Überstand vom sedimentierten Kaliumperchlorat abpipettieren.

Bestimmungsansatz

Phosphoenolpyruvat und 2-Phosphoglycerat in einer Küvette
Meßstrahlung: 340 nm; Schichtdicke: 1 cm; Testvolumen: 1,03 bis 1,11 ml; 25°C; Messung gegen Luft.
Zu jeder Betsimmung gehört ein Leerwert ohne Probe mit halbem NADH-Volumen (II).

In die Küvette pipettieren:			Konzentration im Test
Probe		0,80 ml	300 mM Tra; 3 mM EDTA
Puffer	(I)	0,20 ml	
NADH-Lösung	(II)	0,04 ml	0,1 mM NADH
LDH-Suspension	(III)	0,02 ml	5 µg LDH/ml ≙ 2,75 U/ml
ADP-Lösung	(IV)	0,02 ml	1,2 mM ADP
$MgSO_4$-Lösung	(V)	0,04 ml	10 mM $MgSO_4$
KCl-Lösung	(VI)	0,02 ml	37 mM KCl
mischen; Empfindlichkeitsbereich des Photometers aif Extinktion 0 - 0,25 stellen und durch Kompensation Meßbereich wählen. Extinktion registrieren oder nach 0, 5, 10 und 15 min ablesen; auf Zeitpunkt der PK-Zugabe extrapolieren und E_3 ermitteln.			
PK-Suspension	(VII)	0,04 ml	10 µg PK/ml ≙ 2 U/ml
mischen; Extinktion registrieren oder nach 15, 20 und 25 min ablesen; auf Zeitpunkt der PK-Zugabe extrapolieren und E_4 ermitteln. $E_3 - E_4 = \Delta E_{PEP}$			
Enolase-Suspension	(VIII)	0,04 ml	10 µg Enolase/ml ≙ 0,4 U/ml

mischen; Extinktion registrieren oder nach 15, 20 und 25 min ablesen; auf Zeitpunkt der Enolase-Zugabe extrapolieren und E_5 ermitteln.

$E_4 - E_5 = \Delta E_{2\text{-PG}}$

Berechnung

Die Reaktionen verlaufen stöchiometrisch. Von den Werten ΔE_{Py}, ΔE_{PEP} und $\Delta E_{2\text{-PG}}$ sind die entsprechenden Extinktionsänderungen des Leerwertes abzuziehen.
Die Konzentrationen im Blut (Gehalte in 1g Gewebe) sind durch folgende Beziehungen gegeben:
Meßstrahlung: 340 nm

für PEP : $c = 2{,}04 \cdot \Delta E_{PEP}$ (µMol/ml)

für 2-PG : $c = 2{,}08 \cdot \Delta E_{2\text{-PG}}$ (µMol/ml)

2.7 Bestimmung von 2,3-Diphosphoglycerinsäure (2,3-DPG)(26)

Notwendige Reagentien

1. β-DPNH:
   1 mg (gebrauchsfertig)
   Bei Zimmertemperatur aufbewahren.
2. Triäthanolamin-Puffer (gebrauchsfertig):
   Bei 0 - 5°C aufbewahren.
3. ATP-Lösung:
   500 mg ATP in 5 ml Triäthanolamin-Puffer lösen, eingefroren haltbar.
4. GAPD/PGK (gebrauchsfertig):
   nicht schütteln, bei 0 - 5°C haltbar.
5. PGM (gebrauchsfertig):
   nicht schütteln, bei 0 - 5°C haltbar.
6. Phosphoglycolic acid

7. Phosphoglycolic acid + 5 ml Wasser,
   eingefroren haltbar.
8. Trichloressigsäure 8%ig:
   bei 0 - 5°C haltbar.

Bestimmungsansatz

1,0 ml Vollblut + 3,0 ml Trichloressigsäure 8%ig

5 Minuten kühlen
5 - 10 Minuten Kühlzentrifuge bei 3000 RPM

1,0 mg DPNH + 8,0 ml Triäthanolamin-Puffer = Lösung 1

	Leerwert	Analyse
Lösung 1:	2,5 ml	2,5 ml
ATP (III):	0,1 ml	0,1 ml
Wasser:	0,25 ml	------
Überstand bzw. Filtrat:	-------	0,25 ml
	mischen	
GAPD/PGK (IV):	0,02 ml	0,02 ml
PGM (V):	0,02 ml	0,02 ml
	mischen	
	5 min. stehen lassen	
Filter 340 µm, Leerwert und Analyse gegen Wasser (1. Ablesung)		
Phosphoglycolic (VII):	0,1 ml	0,1 ml
	mischen	
Nach 25 - 30 min. wie oben ablesen gegen Wasser (2. Ablesung)		

Berechnung

Leerwert 1 — Analyse 1
Leerwert 2 — Analyse 2

Diff. Analyse - Diff. Leerwert
Analyse x 3 — Normalwerte: 1,6 - 2,62 mol/ml Vollblut
6,22 x 0,0625
Analyse x 7,7

2.8 Bestimmung von Maltose (26)

Prinzip

(1) Maltose + H_2O $\xrightarrow{\alpha\text{-Glucosidase}}$ 2 Glucose

(2) 2 Glucose + 2 ATP $\xrightarrow{HK}$ 2 Glucose-6-P

(3) 2 Glucose-6-P + 2 $NADP^+$ $\xrightarrow{G\text{-}6\text{-}P\text{ - }DH}$
2 Gluconat-6-P + 2 NADPH + 2 H^+

Das in Reaktion (3) gebildete NADPH, gemessen an der Extinktionszunahme bei 340 nm, ist der aus Maltose gebildeten Glucosemenge proportional. 2 Mol NADPH entsprechen 1 Mol Maltose.

Notwendige Reagentien

1. Natriumacetat · 3 H_2O, p.a.
2. Essigsäure, 0,1 N, p.a.
3. Triäthanolaminhydrochlorid
4. Natronlauge, 4 N
5. Magnesiumsulfat, $MgSO_4$ · 7 H_2O, p.a.
6. Natriumhydrogencarbonat, NaH · CO_3, p.a.

7. Nicotinadenindinucleotidphosphat
   als Dinatriumsalz NADP-Na_2H; Handelspräparate.
8. Adenosin-5-triphosphat, ATP
   als Dinatriumsalz ATP-Na_2H_2 · 3 H_2O; Handelspräparate.
9. Hexokinase, HK
   aus Hefe, kristallisiert, Suspension in 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung; ≙ 140 U/mg (25°C); Handelspräparate.
10. Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, G-6-P - DH
    aus Hefe, Suspension in 3,2 Ammoniumsulfat-Lösung; ≙ 140 U/mg (25°C); Handelspräparate.
11. α-Glucosidase (Maltase)
    aus Hefe, kristallisiert, Suspension in 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung; ≙ 50 U/mg (25°C); Handelspräparate.
12. Perchlorsäure, p.a., 70% (w/w), Dichte = 1,67
13. KOH, p.a., 1 N

Herstellung der Lösungen

Alle Lösungen mit frisch bereitetem doppelt destilliertem Wasser herstellen. Um das Wachsen von Mikroorganismen einzudämmen, die Gefäße ausdämpfen.

1. Acetat-Puffer (0,1 M; pH = 6,6):
   1,36 g Natriumacetat (·3 H_2O) in 80 ml Wasser lösen, mit 0,1 N Essigsäure auf pH = 6,6 einstellen, mit Wasser ad 100 ml auffüllen.
2. Triäthanolamin-Puffer (0,3 M, pH = 7,6; 4 mM $MgSO_4$):
   11,2 g Triäthanolaminhydrochlorid und 0,2 g $MgSO_4$ · 7 H_2O in 150 ml Was-er lösen, mit ca. 5 ml 4 N NaOH auf pH = 7,6 einstellen und mit Wasser ad 200 ml auffüllen.
3. Nicotinadenindinucleotidphosphat (ca. 13 mM NADP):
   50 mg NADP-Na_2H mit 5 ml Wasser lösen.
4. Adenosin-5-triphosphat (82,5 mM):
   250 mg ATP-Na_2H_2 · 3 H_2O und 250 mg $NaHCO_3$ mit 5 ml wasser lösen.

5. α-Glucosidase (5 mg/ml):
   Stammsuspension unverdünnt verwenden.
6. Hexokinase/Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (2 mg HK/ml; 1 mg G-6-P - DH/ml):
   Stammsuspension mit 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung entsprechend verdünnen und mischen.
7. Perchlorsäure (0,4 N):
   3,42 ml 70%ige (4 ml 60%ige) Perchlorsäure mit Wasser ad 100 ml verdünnen.

Arbeitsweise

Enteiweißung:
Probe mit 0,4 N Perchlorsäure im Verhältnis 1 : 4 im Starmix homogenisieren und zentrifugieren. Den Überstand sofort mit KOH neutralisieren. Zur Abscheidung von Kaliumperchlorat neutralisierte Probe 15 Minuten in ein Eisbad stellen, danach filtrieren oder zentrifugieren. Filtrat zur Bestimmung einsetzen.
Stabilität der Probe:
Probelösungen sollten innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

Bestimmungsansatz

Inkubation (1,02 ml; Raumtemperatur)

In ein 10 ml Zentrifugenglas pipettieren:			Konzentration im Test
Acetat-Puffer	(I)	0,50 ml	ca. 50 mM
Probe		0,50 ml	bis ca. 1,3 mM
α-Glucosidase-Suspension	(V)	0,02 ml	ca. 0,1 mg/ml ≙ ca. 5 U/ml

mischen, 10 min bei Raumtemperatur

stehen lassen, dann 3 min in kochendes Wasserbad stellen; filtrieren. Filtrat zur Messung einsetzen

Messung

Meßstrahlung: 340 nm; Schichtdicke: 1 cm; Testvolumen: 3,42 ml; Raumtemperatur; Messung gegen Luft.

In die Küvette pipettieren:			Konzentration im Test
Triäthanolamin-Puffer	(II)	3,00 ml	ca. 0,26 M
NADP-Lösung	(III)	0,10 ml	0,38 mM
ATP-Lösung	(IV)	0,10 ml	2,4 mM
Probe (Filtrat)		0,20 ml	bis ca. 75 µM Maltose
mischen, Extinktion E_1 ablesen			
HK/G-6-P - DH-Suspension	(IV)	0,02 ml	11,7 µg HK/ml (≙ 1,64 U/ml); 5,9 µg G-6-P - DH/ml (≙ 0,82 U/ml)
mischen, Stillstand der Reaktion abwarten (10 - 15 min) und Extinktion E_2 ablesen. $E_2 - E_1 = \Delta E$.			

Berechnung

Die Reaktion verläuft unter den angegebenen Bedingungen stöchiometrisch. Es gilt daher die Berechnungsformel (2). Man erhält als Ergebnis Mol Glucose pro ml Probe. Da aus 1 µMol Maltose 2 µMol Glucose enstehen, ist bei der Berechnung als Maltose das Ergebnis durch 2 zu dividieren. Dieser Wert ist jedoch mit einem Faktor zu multiplizieren, wenn die Probe enteiweißt, neutralisiert oder sonstwie verdünnt wurde. Durch den Inkubationsansatz ergibt sich ferner für

diese Vorschrift ein Verdünnungsfaktor von 2,04. Somit gelten für die Maltosekonzentration der Probe folgende Beziehungen:

Meßstrahlung: 340 nm

$c: \Delta E \cdot 2{,}8$ (µMol/ml)

$c: \Delta E \cdot 0{,}959$ (mg/ml)

3 UNTERSUCHUNGEN UND ERGEBNISSE

3.1 Patienten und Blutentnahme

In vorliegender Arbeit wurden Blutproben von einer Patientengruppe untersucht. Diese Gruppe bestand aus 21 Patienten bzw. Patientinnen, die eine Infusion mit 500 ml HÄS während einer Allgemeinnarkose erhalten hatten. Nach dem Molekulargewicht des infundierten HÄS-Präparates wurden die Patienten in 2 Gruppen eingeteilt:

Gruppe A: Sie bestand aus 10 Patienten, die Plasmasteril® erhielten,

Gruppe B: Sie bestand aus 11 Patienten, die Expafusin® erhielten.

Blutentnahmen von ca. 10 ml erfolgten jeweils prä infusionem, post infusionem (ca. 2 Stunden nach der 1. Abnahme), 24 Stunden nach der Infusion und 72 Stunden nach der Infusion.

Die Patientenauswahl erfolgte rein willkürlich. Es wurde nicht nach Alter, Geschlecht oder Vorerkrankungen selektiert. Das Blut wurde behandelt wie in den Methoden beschrieben und auf folgende Werte untersucht:

Amylase, Pyruvat, Lactat, Glucose, Glucose-6-phosphat, Fructose-6-phosphat, Phosphoenolpyruvat, D-Glycerat-2-phosphat, 2,3-Diphosphoglycerat und Maltose.

3.2 Graphische Darstellungen (Diagramme)

Folgende Abbildungen 1- 10A und 1 - 11B stellen jeweils das Verhalten der α-Amylase im Serum nach Infusion von jeweils 500 ml Plasmasteril® bzw. 500 ml Expafusin® dar. Entsprechend der oberen Einteilung sind die Diagramme der Patienten, die Plasmasteril® erhielten mit A und die Diagramme der Patienten, die Expafusin® erhielten mit B gekennzeichnet.

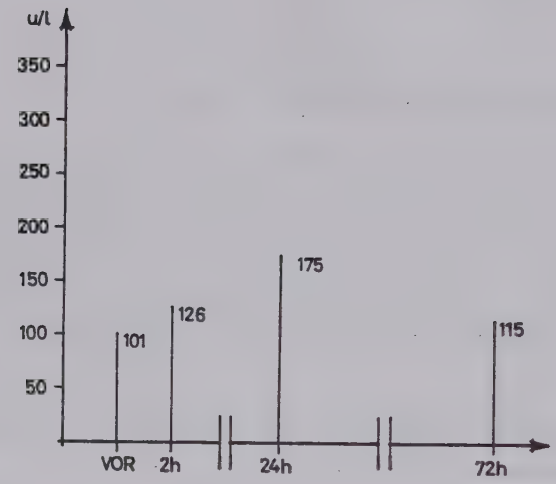
Die obere Abbildung zeigt jeweils die absoluten Meßwerte der α-Amylase vor der Infusion, 2 Stunden, 24 Stunden und 72 Stunden nach der Infusion.

Die untere Abbildung zeigt jeweils die prozentuale Veränderung bezogen auf den Ausgangswert = Serum-Amylase vor der Infusion.

Abbildung 12A zeigt die Mittelwerte aller Patienten der Gruppe A.

Abbildung 12B zeigt die Mittelwerte aller Patienten der Gruppe B.

Abbildung 12AB zeigt die prozentualen Veränderungen der Mittelwerte der Patienten beider Gruppen. Durchgezogene Linie: Gruppe A (Plasmasteril®), punktierte Linie: Gruppe B (Expafusin®).


u/l
350
300
250
200
150
100
50
101
126
175
115
VOR
2h
24h
72h

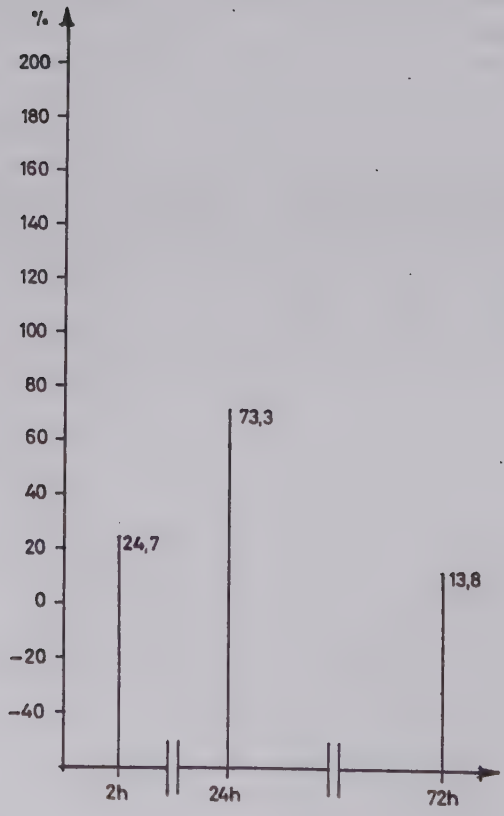
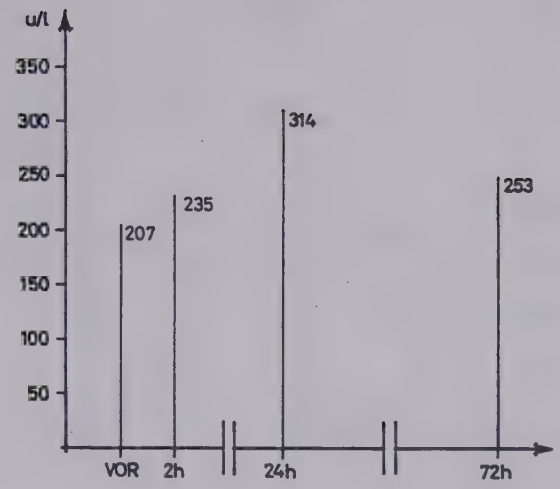

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
24,7
73,3
13,8
2h
24h
72h

Abb.: 1A


u/l
350
300
250
200
150
100
50
207
235
314
253
VOR
2h
24h
72h

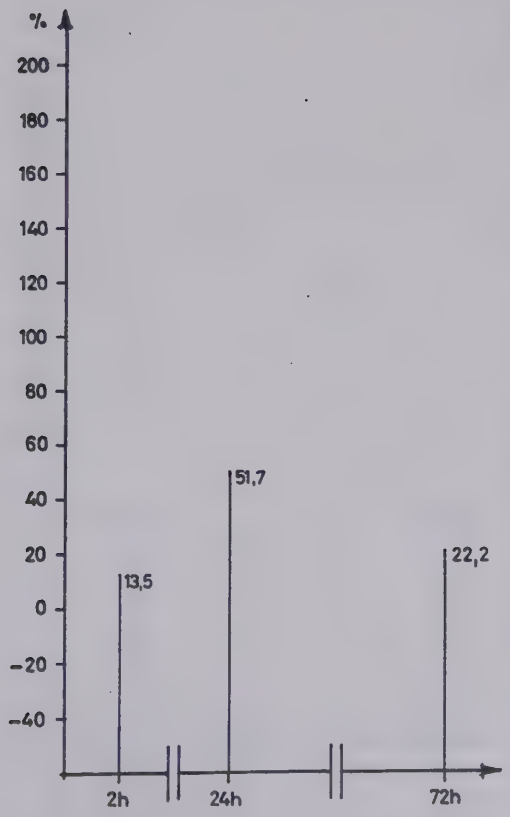
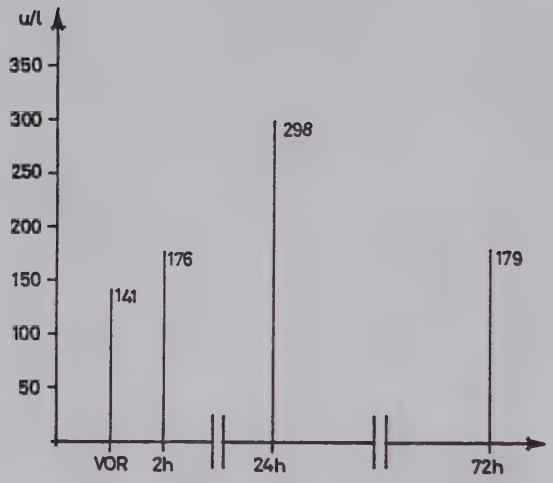

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
13,5
51,7
22,2
2h
24h
72h

Abb.: 2A


u/l
350
300
250
200
150
100
50
141
176
298
179
VOR
2h
24h
72h

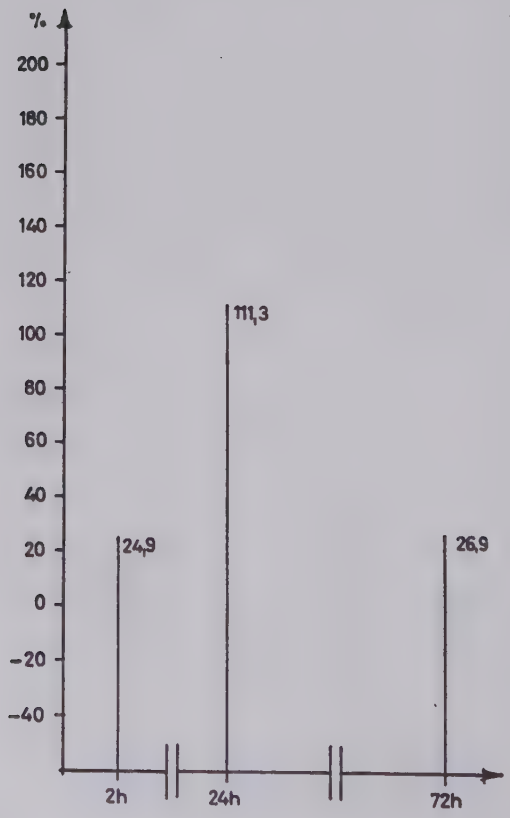
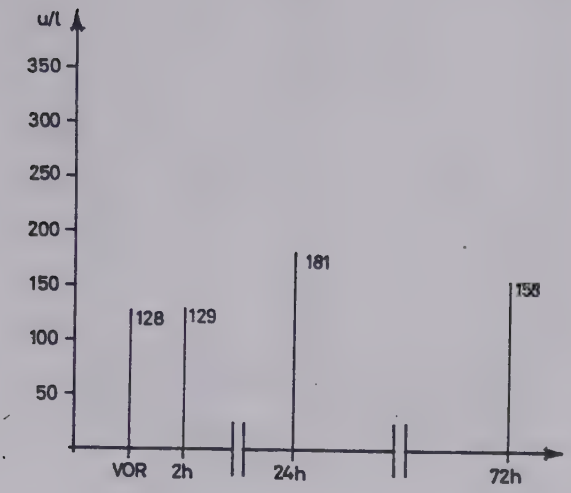

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
111,3
24,9
26,9
2h
24h
72h

Abb.: 3A


u/l
350
300
250
200
150
100
50
128
129
181
158
VOR
2h
24h
72h

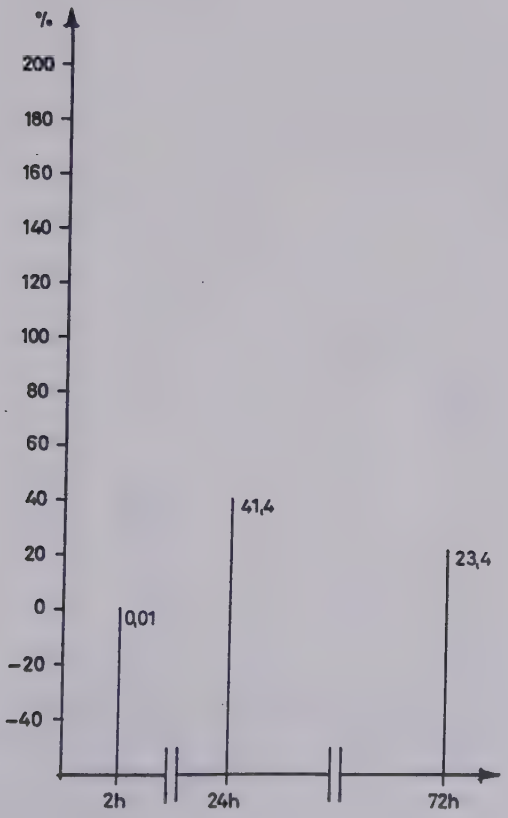
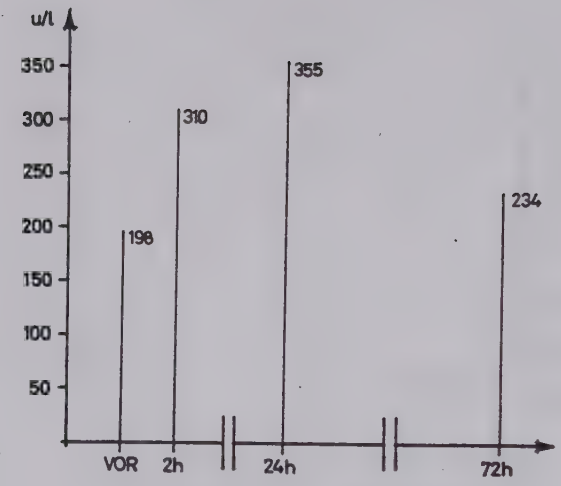

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
0,01
41,4
23,4
2h
24h
72h

Abb.: 4A


u/l
350
300
250
200
150
100
50
198
310
355
234
VOR
2h
24h
72h

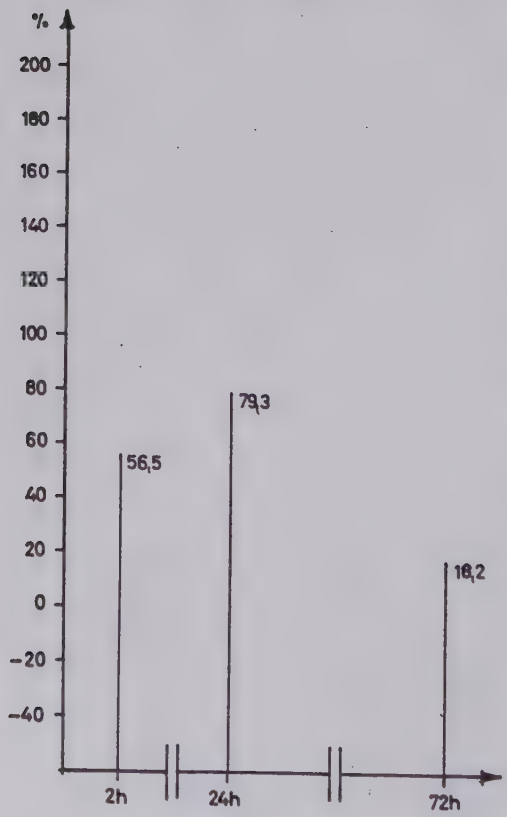
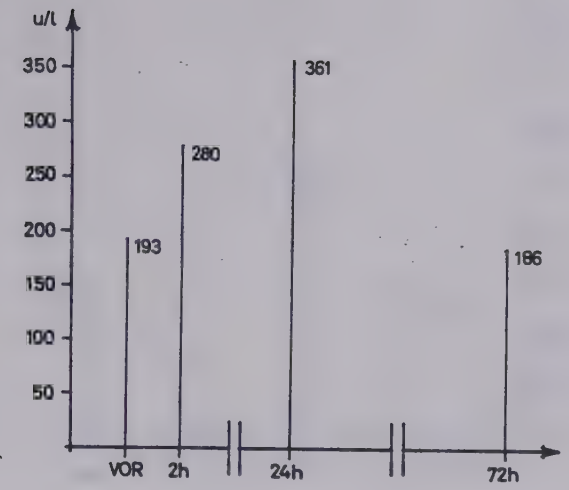

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
56,5
79,3
18,2
2h
24h
72h

Abb.: 5A


u/l
350
300
250
200
150
100
50
193
280
361
186
VOR
2h
24h
72h

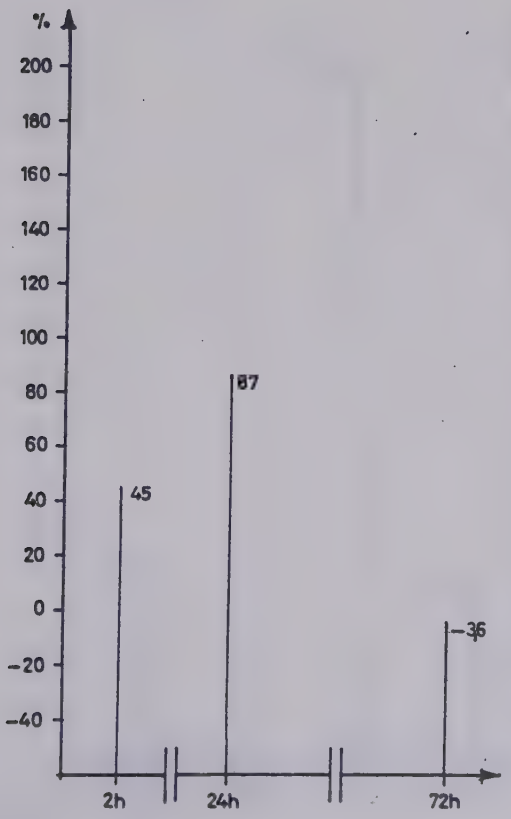
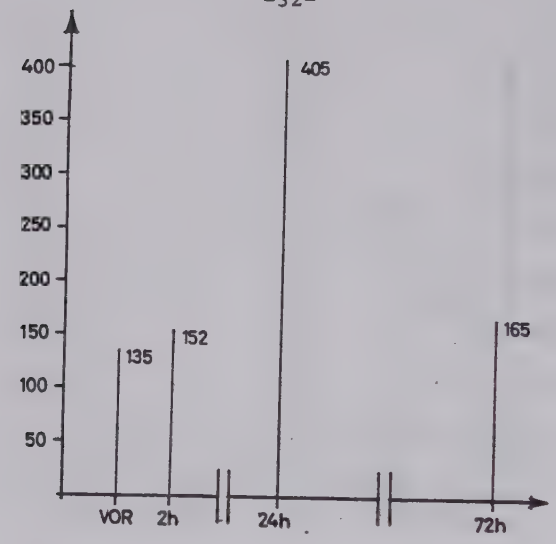

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
45
87
-36
2h
24h
72h

Abb.: 6A


400
350
300
250
200
150
100
50
135
152
405
165
VOR
2h
24h
72h

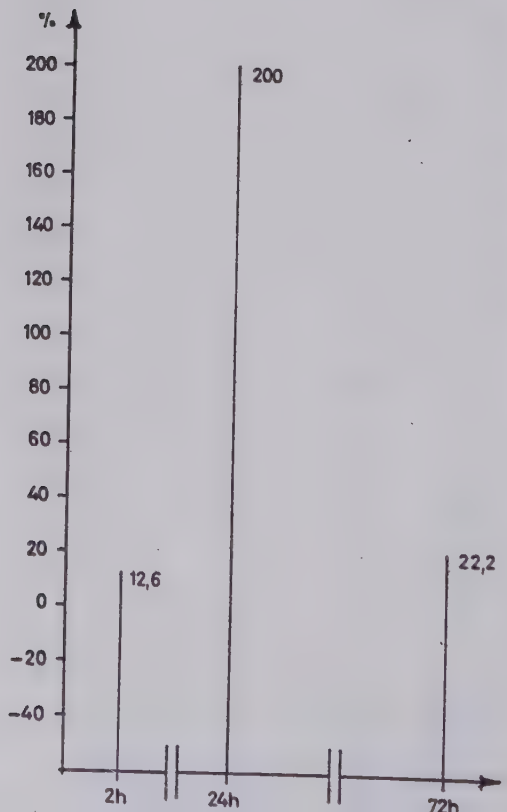
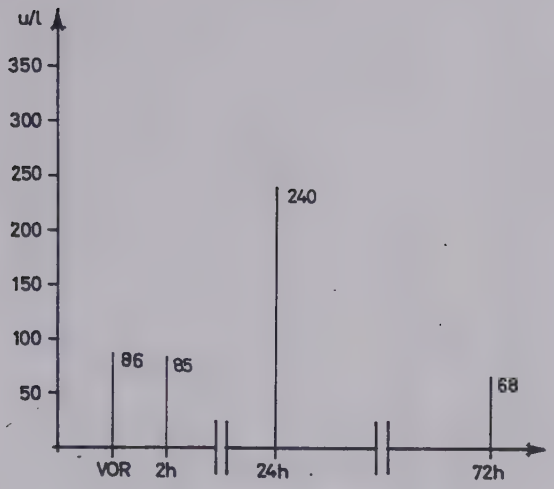

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
200
12,6
22,2
2h
24h
72h

Abb.: 7A


u/l
350
300
250
200
150
100
50
86
85
240
68
VOR
2h
24h
72h

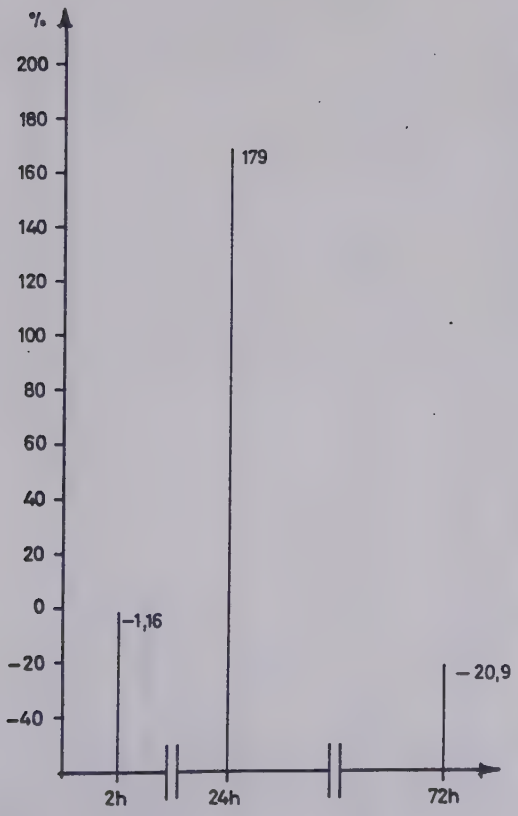
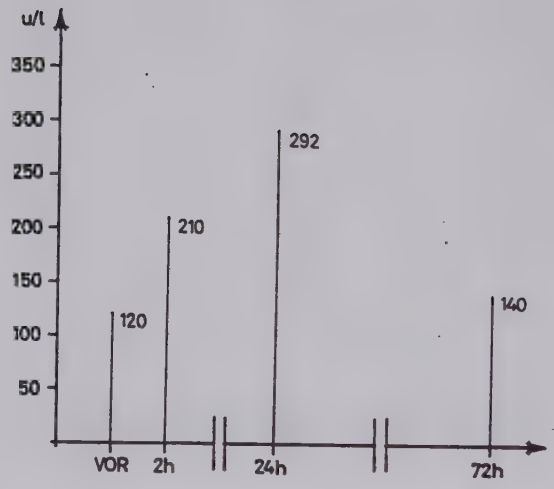

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
179
-1,16
-20,9
2h
24h
72h

Abb.: 8A


u/l
350
300
250
200
150
100
50
120
210
292
140
VOR
2h
24h
72h

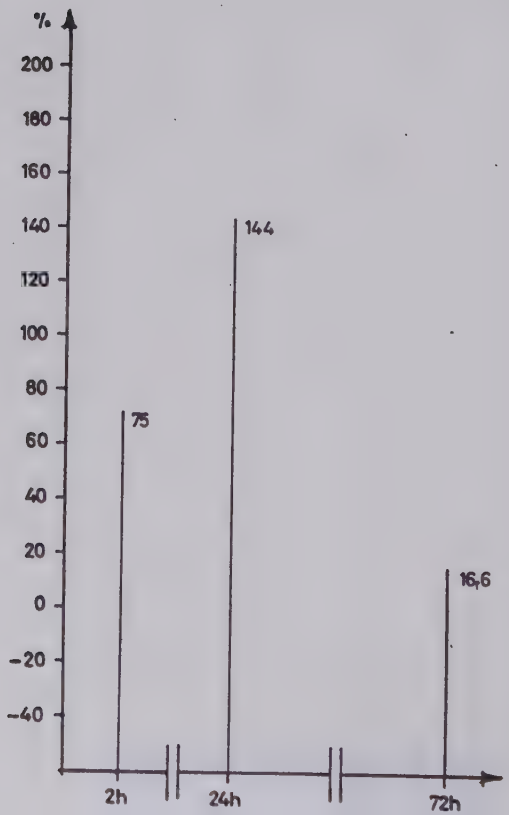
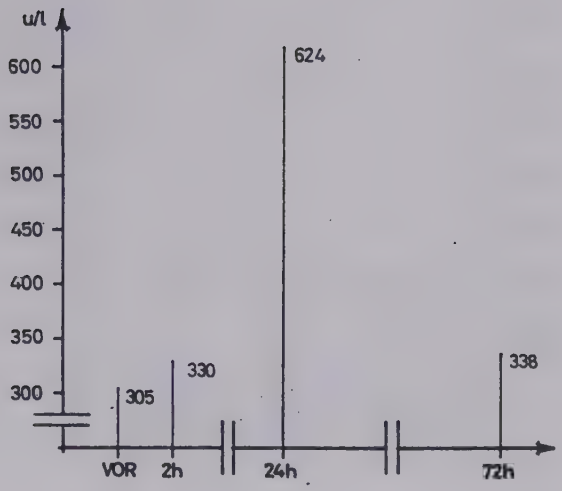

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
144
75
16,6
2h
24h
72h

Abb.: 9A


u/l
600
550
500
450
400
350
300
624
330
305
338
VOR
2h
24h
72h

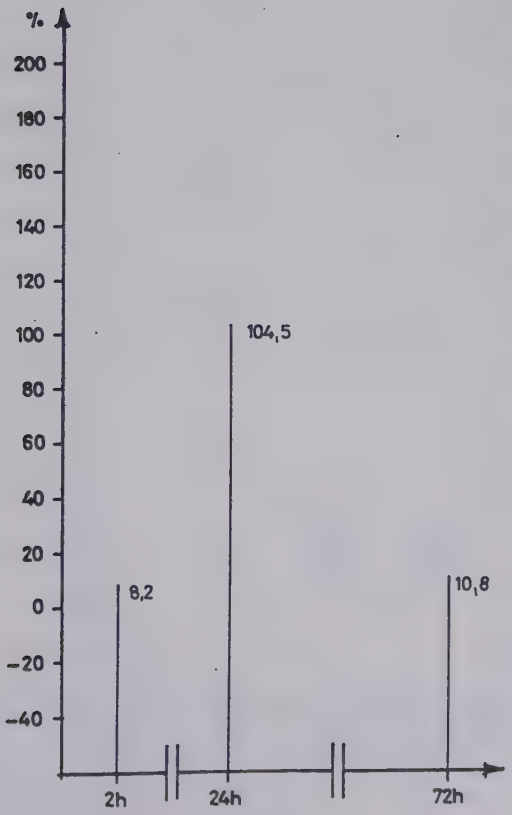
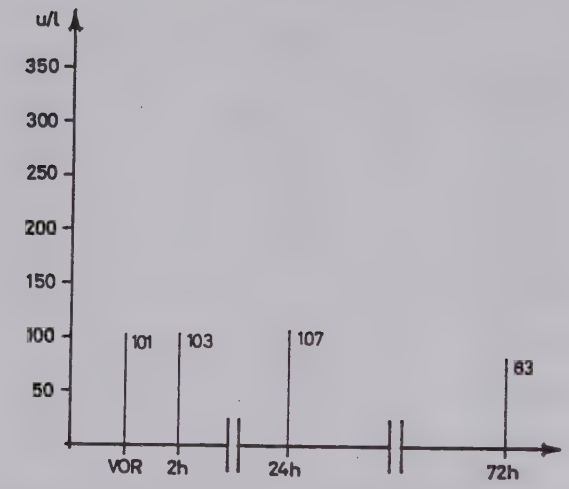

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
104,5
8,2
10,8
2h
24h
72h

Abb.: 10A


u/l
350
300
250
200
150
100
50
101
103
107
63
VOR
2h
24h
72h

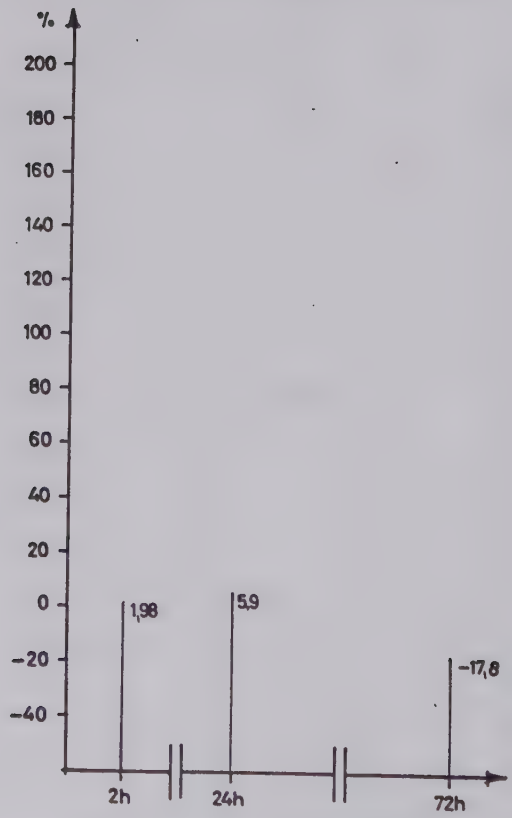
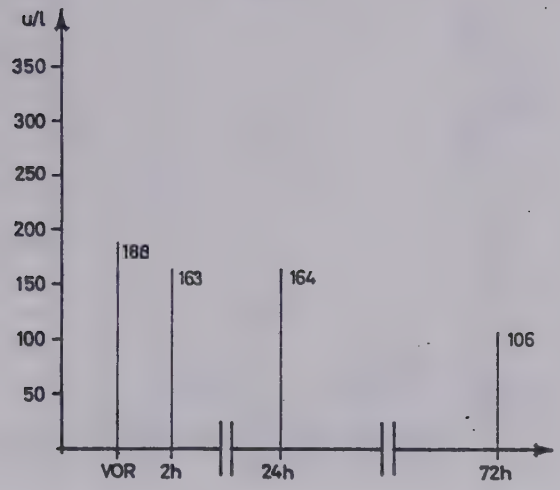

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
1,98
5,9
-17,8
2h
24h
72h

Abb.: 1B


u/l
350
300
250
200
150
100
50
188
163
164
106
VOR
2h
24h
72h

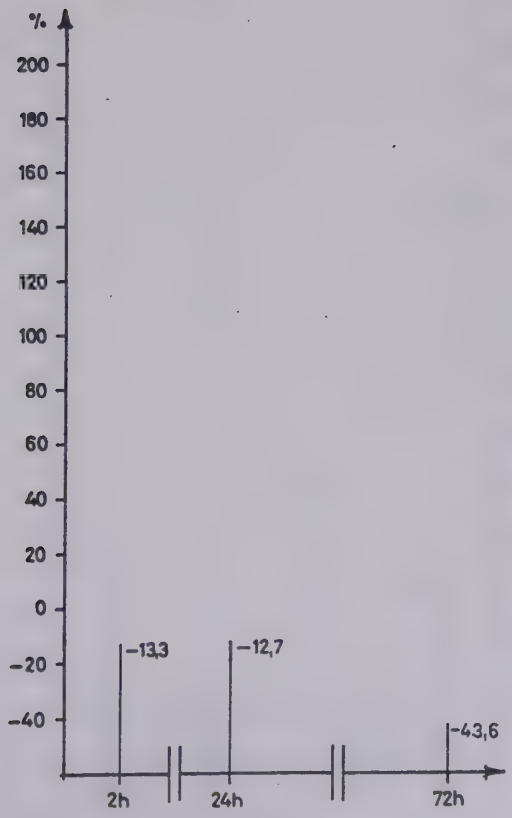
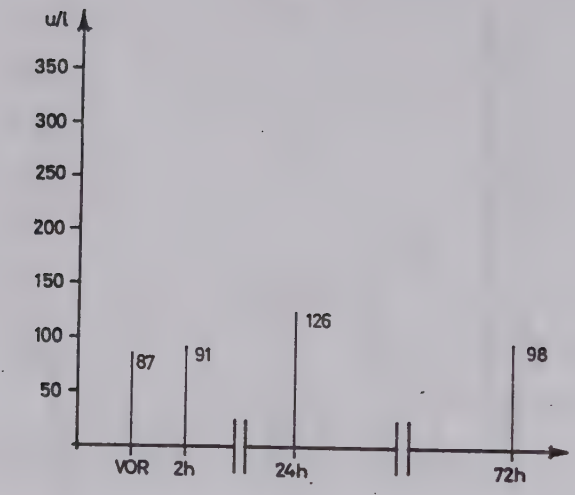

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-13,3
-12,7
-43,6
2h
24h
72h

Abb.: 2B


u/l
350
300
250
200
150
100
50
87
91
126
98
VOR
2h
24h
72h

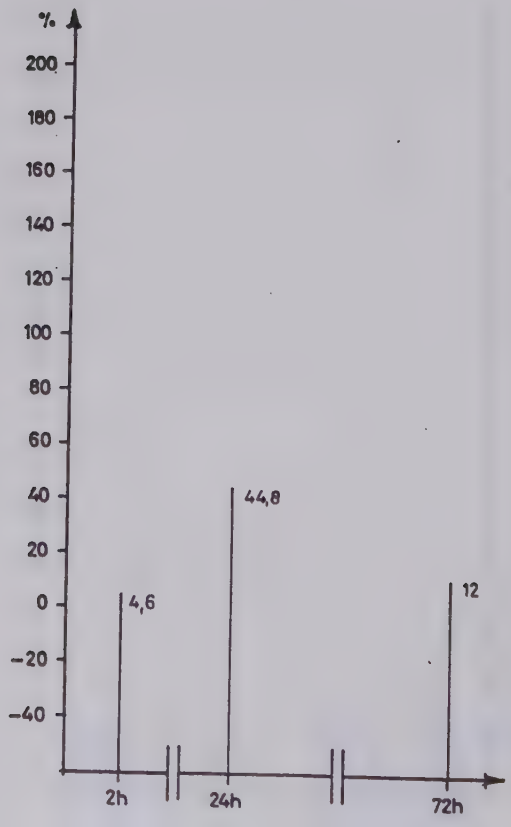
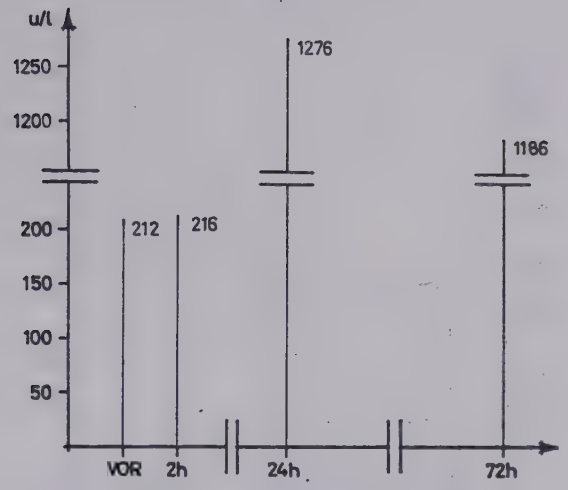

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
4,6
44,8
12
2h
24h
72h

Abb.: 3B


u/l
1250
1200
200
150
100
50
1276
1186
212
216
VOR
2h
24h
72h

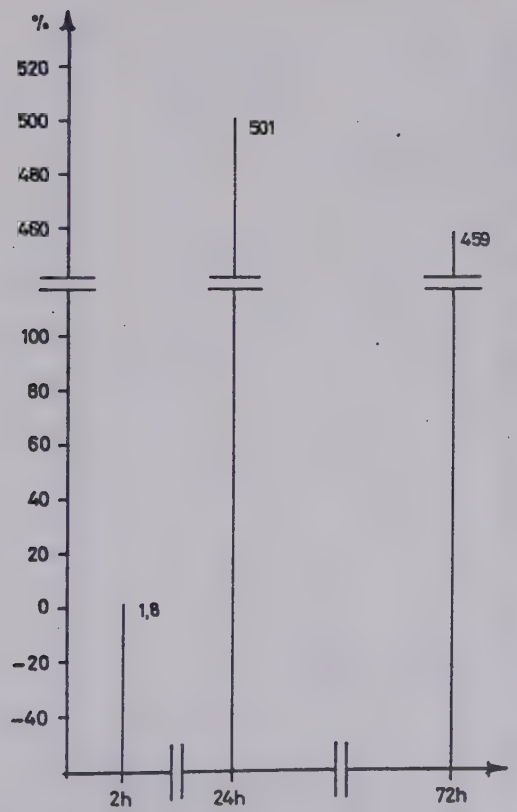
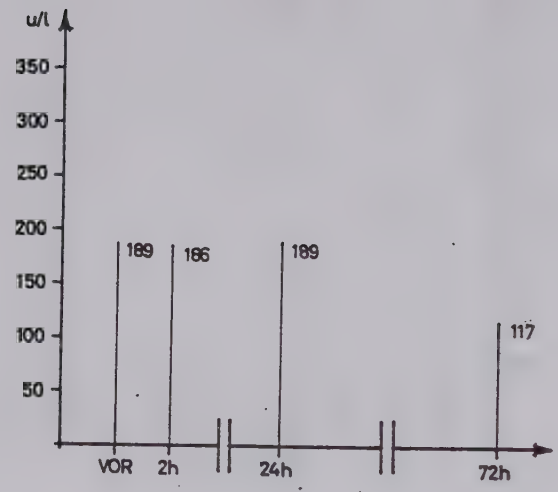

%
520
500
480
460
100
80
60
40
20
0
-20
-40
501
459
1,8
2h
24h
72h

Abb.: 4B


u/l
350
300
250
200
150
100
50
189
186
189
117
VOR
2h
24h
72h

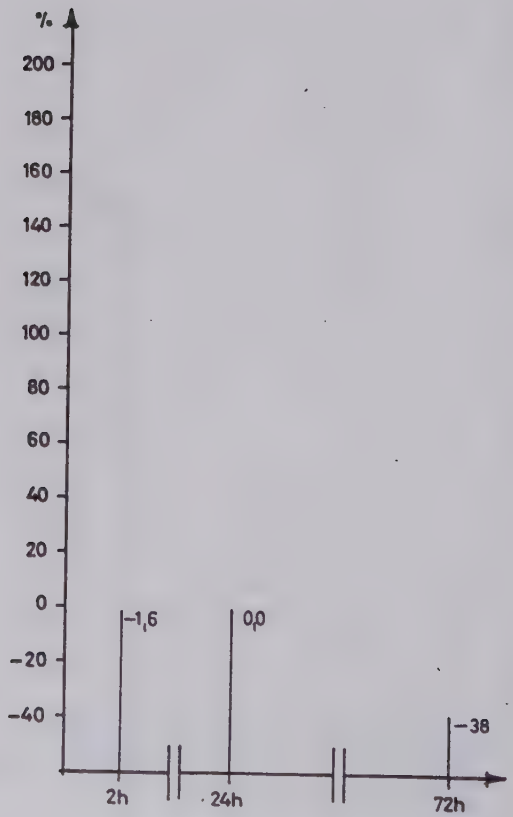
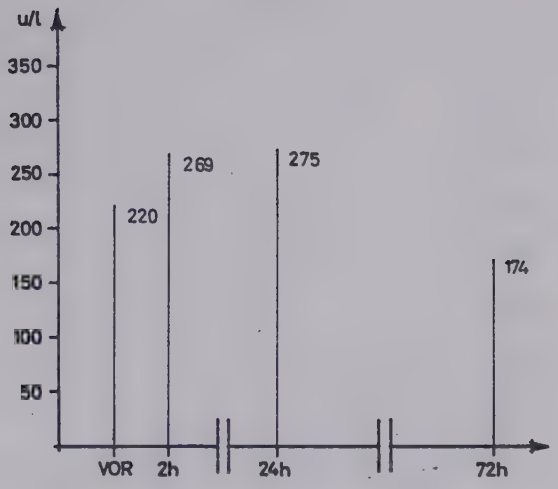

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-1,6
0,0
-38
2h
24h
72h

Abb.: 5B


u/l
350
300
250
200
150
100
50
220
269
275
174
VOR
2h
24h
72h

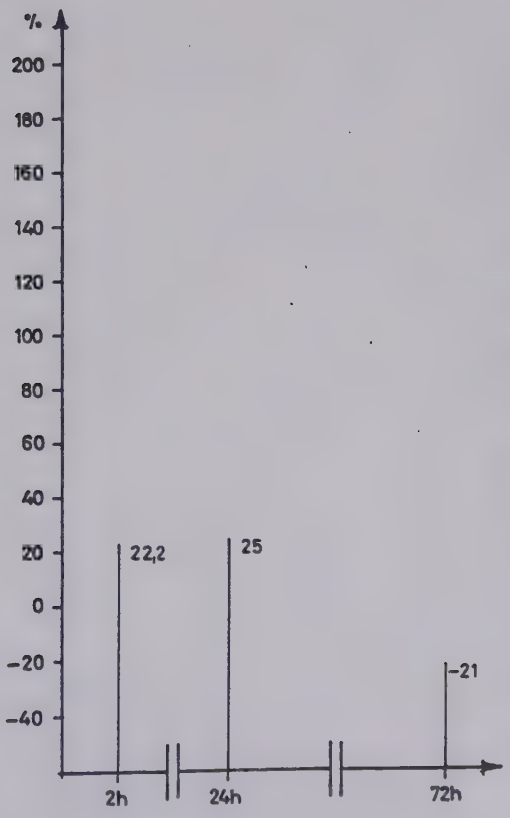
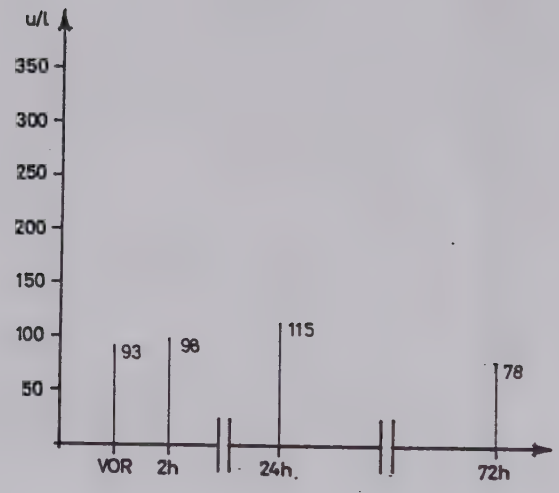

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
22,2
25
-21
2h
24h
72h

Abb.: 6B


u/l
350
300
250
200
150
100
50
93
98
115
78
VOR
2h
24h
72h

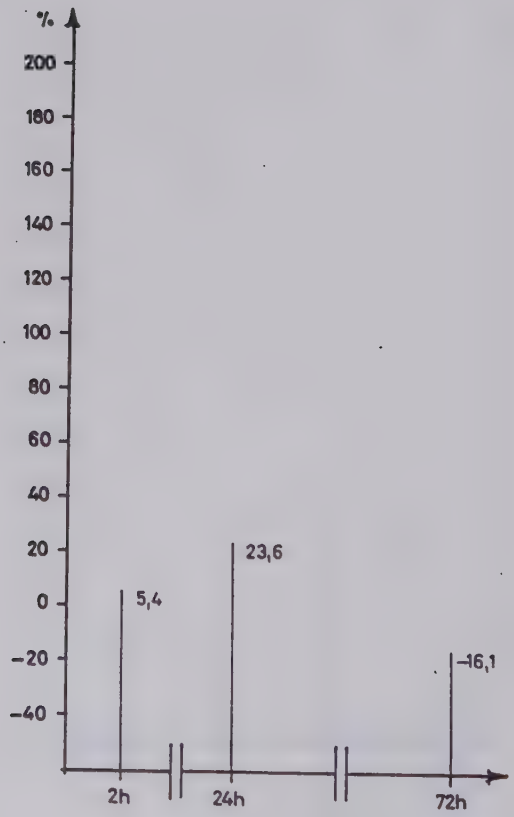
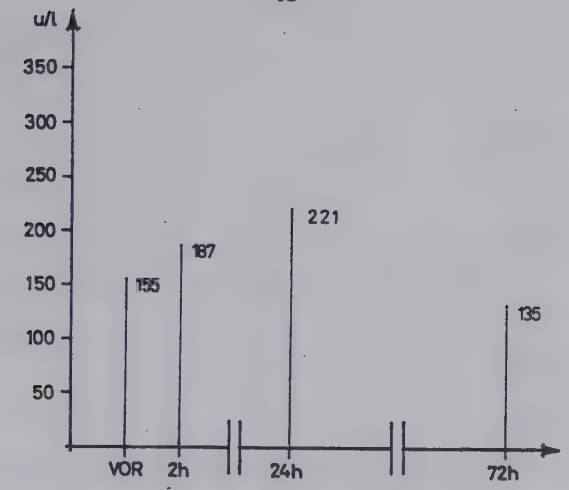

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
5,4
23,6
-16,1
2h
24h
72h

Abb.: 7B


u/l
350
300
250
200
150
100
50
155
187
221
135
VOR
2h
24h
72h

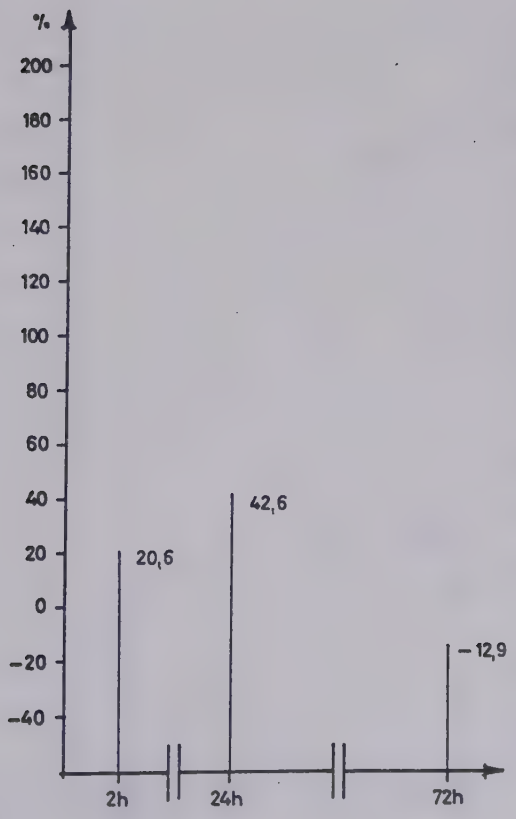
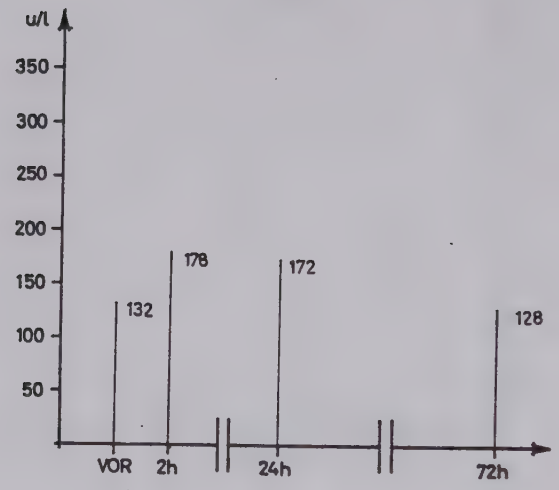

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
20,6
42,6
-12,9
2h
24h
72h

Abb.: 8B


u/l
350
300
250
200
150
100
50
132
178
172
128
VOR
2h
24h
72h

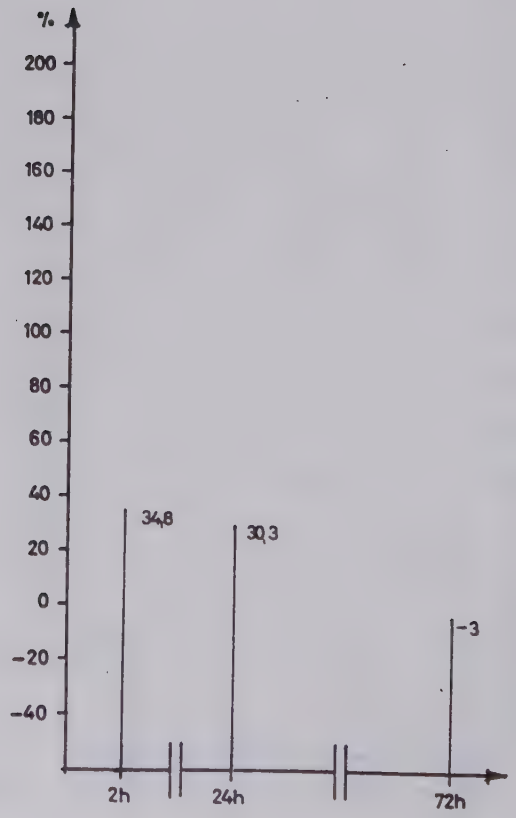
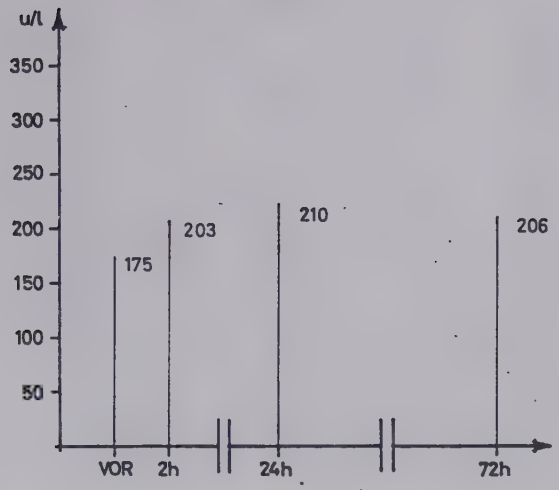

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
34,8
30,3
-3
2h
24h
72h

Abb.: 9B


u/l
350
300
250
200
150
100
50
175
203
210
206
VOR
2h
24h
72h

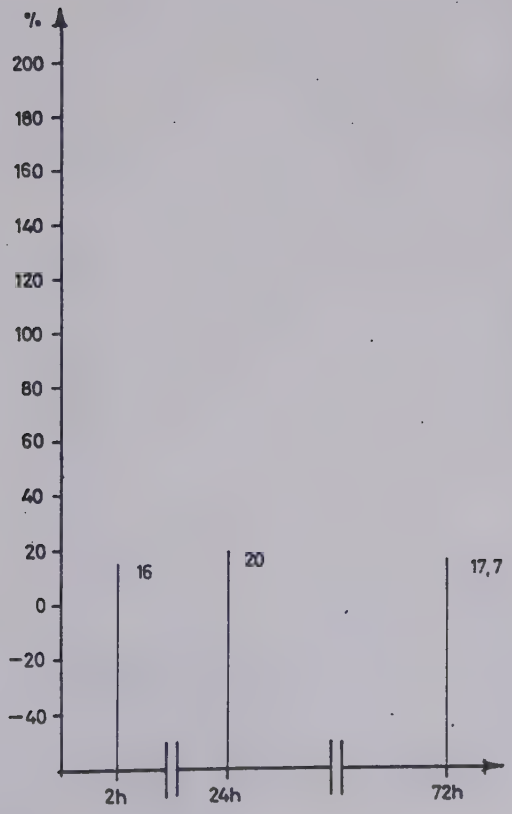
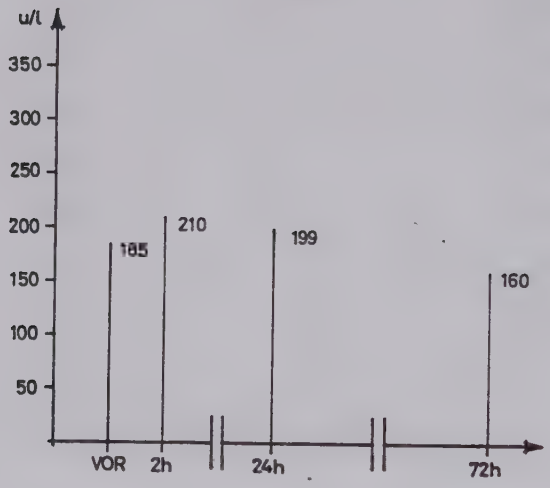

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
−20
−40
16
20
17,7
2h
24h
72h

Abb.: 10B


u/l
350
300
250
200
150
100
50
185
210
199
160
VOR
2h
24h
72h

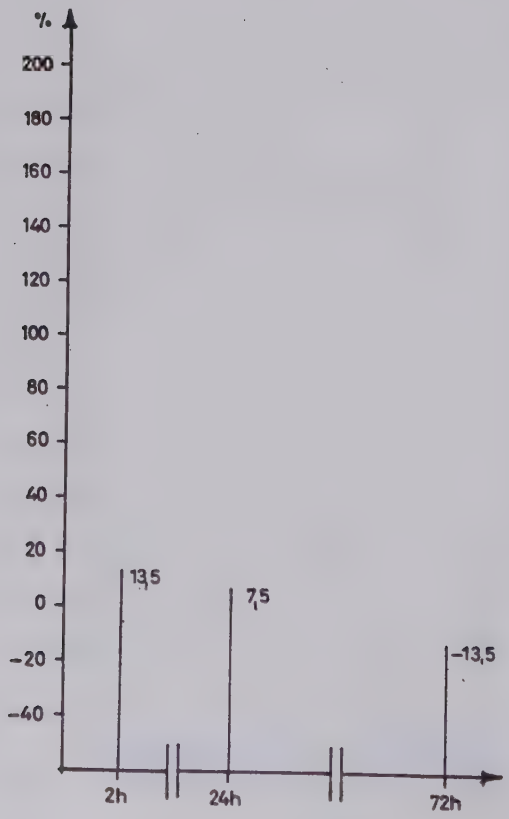

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
13,5
7,5
-13,5
2h
24h
72h

Abb.: 11B

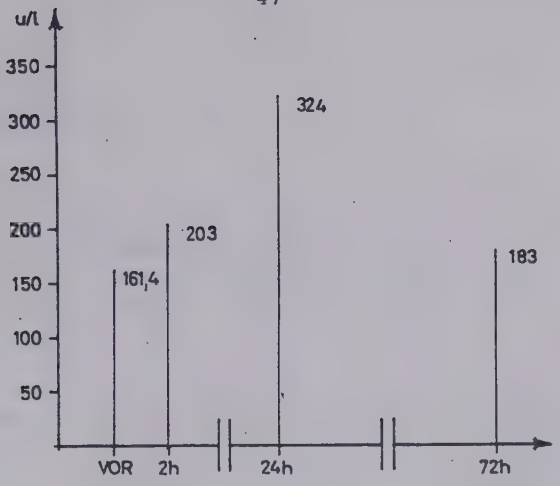


Abb.: 12A

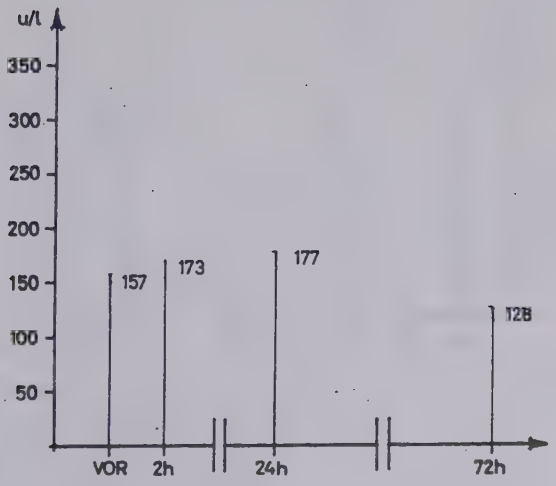


Abb.: 12B

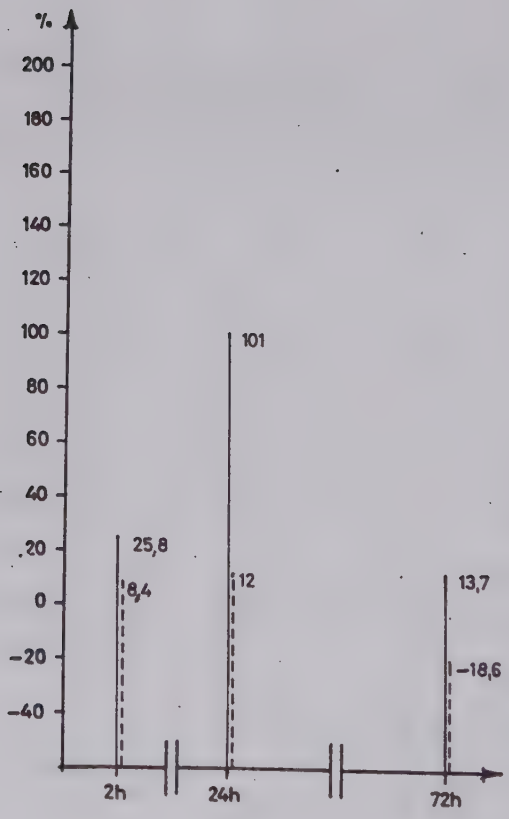

%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
−20
−40
25,8
8,4
101
12
13,7
−18,6
2h
24h
72h

Abb.: 12AB

4 DISKUSSION

Wie die Differenzierung des Isoamylasemusters durch Gelfiltration und Untersuchungen an Patienten mit subtotaler und totaler Pankreatektomie ergeben haben, stammt die beim Gesunden vorhandene Serumamylase zu ca. 75% aus der Leber (19).
Eine Anreicherung der Pankreasamylase im Blutplasma wird nur bei einer Affektion der Bauchspeicheldrüse beobachtet. Außerdem kann die Serumamylase bei Parotitis, bei Einschränkung der Nierenclearence, nach Gaben von Opiaten oder Kodein und nach Zufuhr größerer Alkoholmengen steigen (27).
Es ist also anzunehmen, daß der in vorliegender Arbeit beobachtete Anstieg der Serumamylase nach HÄS-Infusion auf eine Leistung der Leber (Enzyminduktion) zurückzuführen ist (19). Dabei bleiben jedoch die Serumkonzentrationen von SGPT, SGOT, LDH, alk. Phosphatase, γ-GT und Lipase unbeeinflußt (9). Außerdem wird durch Bildung eines Komplexes zwischen Amylasemolekül des Serums und HÄS-Molekülen die glomeruläre Filtrationsrate der Amylase gesenkt und damit die Amylaseclearence vermindert, wie Gofferje und Kozlik (9) gefunden haben, was ebenfalls zur Hyperamylasämie beiträgt.
Die Normalwerte der Serumamylase bewegen sich bei 36 - 201 U/l (21). Nach Expafusin®-Infusion steigt bei den von uns untersuchten Patienten in 72,7% der Fälle die Serumamylase an, in 45,45% über den Normalwert von 201 U/l. Nach Plasmasteril®-Infusion steigt bei allen untersuchten Personen (100% der Fälle) die α-Amylase an, bei 80% über die obere Grenze des Normalwertes.
Insgesamt ist der α-Amylase-Anstieg höher als bei Expafusin® und beträgt nicht selten das Doppelte bis Dreifache des Ausgangswertes.
Auffällig ist, daß das Maximum der Hyperamylasämie sowohl bei Plasmasteril® als auch bei Expafusin® meist am 1. Tag

post infusionem beobachtet wird, während es am 3. Tag bereits wieder abfällt.
Diese Ergebnisse decken sich weitgehend mit den Untersuchungen von Gofferje und Kozlik, die ebenfalls ein Maximum des Amylase-Anstieges am 1. Tag post infusionem sowohl bei Expafusin® wie bei Plasmasteril® feststellten (9). Insgesamt wurden jedoch von den in unsere Untersuchung einbezogenen Patienten höhere Amylasewerte erreicht.
Die Normalwerte für Pyruvat liegen bei 40 - 110 µMol/l (0,04 - 0,11 mMol/l) (21).
Ein Maximum des Pyruvat-Anstieges ist in den meisten Fällen am 1. Tag nach der Infusion zu verzeichnen, was einen Zusammenhang mit der HÄS-Infusion wahrscheinlich macht.
Nach Expafusin®-Infusion findet sich ein Anstieg bei 9 Personen, wobei eine Serum-Probe nicht ausgewertet werden konnte.
Nach Plasmasteril®-Infusion steigt der Serum-Pyruvat-Spiegel ebenfalls in allen Fällen an.
Ein Anstieg über die obere Grenze des Normalwertes von 110 µMol/l hinaus ist bei Expafusin®-Infusion in 7 Fällen (= 63,6%), nach Plasmasteril®-Infusion in 6 Fällen (= 60%) zu verzeichnen.
Die Normalwerte für Lactat liegen bei 0,7 - 1,5 mMol/l. Ebenso wie bei Pyruvat ist hier in jeweils 9 Fällen ein absoluter Anstieg zu erkennen, wobei die obere Normgrenze jedoch nach Expafusin®-Infusion nur in 3 Fällen, nach Plasmasteril®-Infusion in 4 Fällen überschritten wird.
Interessant sind die Ergebnisse der Glucose-Veränderungen. Normalwerte 1 Stunde nach 100 g Glucose-Gabe per os liegen bei 8,9 mMol/l ≙ 160 mg/ml; 2 Stunden nach 100 g Glucose-Gabe per os liegen sie bei 6,7 mMol/l ≙ 120 mg/100 ml (21).
Ein absoluter Anstieg läßt sich sowohl nach Expafusin®-Infusion wie nach Plasmasteril®-Infusion in je 9 Fällen beobachten. Da der Anstieg jedoch nicht zur gleichen Zeit, sondern sowohl 2 Stunden nach der Infusion wie auch z.T. am 1. und 3. Tag post infusionem erfolgt und über genaue Essenszeiten der Patienten nichts bekannt war, sind diese

Anstiege nicht ohne weiteres als Folge der Infusionen zu werten. Wichtig sind in diesem Zusammenhang nur die Werte 2 Stunden nach der Infusion, da die Patienten zu diesem Zeitpunkt sicher noch nüchtern waren (bedingt durch Narkosevorbereitung).
Ein Anstieg über 8,9 mMol/l (= über 160 mg/ml) fand sich nach Expafusin®-Infusion in 3 Fällen; nach Plasmasteril®-Infusion fand sich kein Fall über 8,9 mMol/l, jedoch 1 Fall von mehr als 6,8 mMol/l.
Das geringere Molekulargewicht von Expafusin® könnte also zur Folge haben, daß es bei Personen mit latentem Diabetes (diabetischer Stoffwechsellage) während der Operation schneller zur Entgleisung kommt. Leider ist über eine eventuell vorliegende diabetische Vorerkrankung der Patienten nichts bekannt, so daß eine genauere Prüfung dieser Beobachtung weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben muß.
Bei Glucose-6-phosphat findet sich nach Expafusin®-Infusion in 7 Fällen, nach Plasmasteril®-Infusion in 6 Fällen ein Anstieg.
Bei Fructose-6-phosphat ist nach Expafusin®-Infusion in 6 Fällen und nach Plasmasteril®-Infusion in 5 Fällen ein Anstieg zu beobachten.
Bei Phosphoenolpyruvat (PEP), D-Glycerat-2-phosphat (2-PG), Diphosphoglycerat (2,3-DPG) und Maltose findet sich ebenfalls z.T. ein Anstieg der Werte, jedoch ist die Schwankungsbreite der gefundenen Werte groß, so daß eine Auswertung oder gar Zustimmung nicht eindeutig möglich ist.
Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich bei den Amylase-Veränderungen eindeutig Unterschiede zwischen Expafusin®- und Plasmasteril®-Infusion ergeben.
Zwischenprodukte des Zuckerstoffwechsels zeigen ebenfalls deutliche Anstiege, jedoch nur unwesentliche Unterschiede zwischen den beiden HÄS-Formen.
Je mehr enzymatische Zwischenschritte zwischen Glucose und dem untersuchten Parameter liegen, desto deutlicher wird auch der Zusammenhang des Anstiegs mit der HÄS- Infusion.

Vorsicht ist geboten bei Patienten mit diabetischer Stoffwechsellage, da der Abbau besonders von kleinmolekularer HÄS sich negativ auf den Glucosehaushalt auswirken könnte.
Vergleichsliteratur, die den Zusammenhang zwischen HÄS-Infusion und Veränderungen der in dieser Arbeit untersuchten Parameter beschreibt, existiert bisher leider nicht (Stand 1980).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Verwendet man Hydroxyäthylstärke (HÄS) als Volumenersatz, so kommen zwei Anwendungsformen in Frage:

1. 6%ige HÄS mit einem mittleren Molekulargewicht von 450 000 (Plasmasteril®).
2. 6%ige HÄS mit einem mittleren Molekulargewicht von 40 000 (Expafusin®).

Beide Volumenersatzmittel haben sich in der Medizin bewährt. In vorliegender Arbeit wurden Seren von Patienten untersucht, die je eine dieser beiden unterschiedlichen HÄS-Präparationen erhalten hatten.

Dabei wurden Veränderungen folgender Stoffwechselparameter im Vollblut gemessen:

Pyruvat, Lactat, Glucose, Glucose-6-phosphat, Fructose-6-phosphat, Phosphoenolpyruvat (PEP), Glycerat-2-phosphat (2-PG), 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) und Maltose, ferner α-Amylase im Serum.

Die hauptsächlich aus der Leber stammende α-Amylase steigt post infusionem deutlich an und zeigt ein Maximum am 1. Tag nach der Infusion. Am 3. Tag nach der Infusion werden fast in allen Fällen die Ausgangswerte wieder annähernd erreicht. Dabei ergeben sich nach Plasmasteril® deutlich höhere Amylase-Werte als nach Expafusin®.

Eindeutige Anstiege zeigten sich auch bei Pyruvat, Lactat, Glucose, Glucose-6-phosphat und Fructose-6-phosphat, die darauf schließen lassen, daß der gesamte Zuckerstoffwechsel durch den Stärkeabbau aktiviert wird.

Bei PEP, 2-PG, 2,3-DPG und Maltose sind nur undeutliche Änderungen zu registrieren.

Hier ist die Zahl der enzymatischen Zwischenschritte zwischen Amylopektin und den gemessenen Stoffwechselparametern groß. Damit besteht eine Vielzahl von Störmöglichkeiten und der bei den anderen Parametern augenfällige Zusammenhang zur HÄS- Infusion geht verloren.

6. ANHANG (TABELLEN)

1A, Patient B.M.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	101	126	175	115	U/l
Pyruvat	20,82	47,97			µMol/l
Lactat	1,00	1,18	1,28		mMol/l
Glucose	5,01	4,89	6,59		mMol/l
G-6-P	28,49	19,94	22,79		mMol/l
F-6-P	14,12	19,77	5,65		mM01/l
PEP	0,027	0,041	0,037		mMol/l
2-PG	0,023	0,023	0,033		mMol/l
2,3-DPG	1,80	1,56	1,53		mMol/l
Maltose					mMol/l

2A, Patient S.G.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	207	235	314	253	U/l
Pyruvat	15,39	43,44	124,89	99,55	µMol/l
lactat	1,81	1,37	1,50	1,54	mMol/l
Glucose	6,10	4,72	6,04	6,50	mMol/l
G-6-P	19,94	19,94	14,25	14,25	mMol/l
F-6-P	14,12	5,65		14,12	mMol/l
PEP	0,041	0,037	0,031	0,047	mMol/l
2-PG	0,023	0,029	0,019	0,015	mMol/l
2,3-DPG	1,85	1,25	1,23	1,43	mMol/l
Maltose					mMol/l

3A, Patient W.H.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	141	176	298	179	U/l
Pyruvat	8,15	9,96	133,94	56,11	µMol/l
Lactat	0,62	1,17	1,34	0,75	mMol/l
Glucose	4,21	7,60	5,02	4,31	mMol/l
G-6-P	19,94	19,94	17,10	14,25	mMol/ml
F-6-P	5,65	8,47		14,12	mMol/ml
PEP	0,039	0,027	0,031	0,078	mMol/l
2-PG	0,025	0,027	0,019	0,017	mMol/l
2,3-DPG	1,99	1,85	1,70	2,12	mMol/l
Maltose					mMol/l

4A, Patient P.K.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	128	129	181	158	U/l
Pyruvat	27,15	36,20	212,68	86,88	µMol/l
Lactat	0,90	1,07	2,33	0,77	mMol/l
Glucose	4,86	4,73	4,97	4,42	mMol/l
G-6-P	25,64	14,25	37,04	22,79	mMol/ml
F-6-P	28,24	19,77	22,59	22,59	mMol/ml
PEP	0,037	0,039	0,037	0,006	mMol/l
2-PG	0,017	0,021	0,015	0,033	mMol/l
2,3-DPG	2,38	1,79	1,46	1,44	mMol/l
Maltose	0,94	1,61	0,20	0,69	mMol/l

5A, Patient B.F.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	198	310	355	234	U/l
Pyruvat	20,82	17,20	147,52	103,17	µMol/l
Lactat	0,76	0,79	2,12	0,10	mMol/l
Glucose	3,92	3,84	6,94	7,50	mMol/l
G-6-P	16,94		22,59	34,19	mMol/l
F-6-P			17,10	22,59	mMol/ml
PEP	0,041	0,037	0,029	0,024	mMol/l
2-PG	0,035	0,037	0,025	0,037	mMol/l
2,3-DPG	1,85	1,69	1,57	1,84	mMol/l
Maltose	0,96	1,38	0,11	1,62	mMol/l

6A, Patient G.Y.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	193	280	361	186	U/l
Pyruvat	10,86	30,77	57,02	102,27	µMol/l
Lactat	0,71	0,69	0,71	1,01	mMol/l
Glucose	4,04	3,36	4,06	4,26	mMol/l
G-6-P	28,49	22,79	17,10		mMol/ml
F-6-P	28,24				mMol/ml
PEP	0,020	0,037	0,041	0,033	mMol/l
2-PG	0,017	0,031	0,056	0,017	mMol/l
2,3-DPG	2,05	1,05	1,92	2,03	mMol/l
Maltose		1,15	0,50	0,75	mMol/l

7A, Patient V.M.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	135	152	405	165	U/l
Pyruvat	45,25	50,68	36,20	9,05	µMol/l
Lactat	0,68	0,67	0,85	0,98	mMol/l
Glucose	3,72	4,93	7,66	5,47	mMol/l
G-6-P			8,55		mMol/ml
F-6-P					mMol/ml
PEP	0,053	0,061	0,053	0,071	mMol/l
2-PG	0,042	0,037	0,073	0,037	mMol/l
2,3-DPG	2,19	1,59	1,49	1,92	mMol/l
Maltose	1,16	1,80		0,56	mMol/l

8A, Patient H.A.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	86	85	240	68	U/l
Pyruvat	32,58	41,63	99,55	80,55	µMol/l
Lactat	0,57	0,85	2,10	0,97	mMol/l
Glucose	4,01	4,65	6,80	5,99	mMol/l
G-6-P			28,49		mMol/ml
F-6-P			28,24		mMol/ml
PEP	0,088	0,071	0,047	0,003	mMol/l
2-PG	0,083	0,081	0,033	0,025	mMol/l
2,3-DPG	1,77	1,17	1,45	1,60	mMol/l
Maltose	0,64	1,81			mMol/l

9A, Patient E.B.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	120	210	292	140	U/l
Pyruvat	14,15	42,46	125,90	18,42	µMol/l
Lactat	0,79	1,26	0,62	0,92	mMol/l
Glucose	6,66	4,44	3,51	4,36	mMol/l
G-6-P	14,25	14,25	22,79	11,40	mMol/ml
F-6-P			14,12		mMol/ml
PEP	0,051	0,047	0,055	0,051	mMol/l
2-PG	0,037	0,033	0,023	0,033	mMol/l
2,3-DPG	2,35	2,03	2,37	2,30	mMol/l
Maltose		0,42	0,55	1,05	mMol/l

10A, Patient H.R.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	305	330	624	338	U/l
Pyruvat	74,66	73,69	156,16	142,98	µMol/l
Lactat	1,17	1,34	2,38	1,82	mMol/l
Glucose	4,08	4,63	6,16	6,43	mMol/l
G-6-P	5,70	14,25	39,89	14,25	mMol/ml
F-6-P	28,24	14,12	11,30	8,47	mMol/ml
PEP	0,047	0,057	0,037	0,051	mMol/l
2-PG	0,021	0,037	0,021	0,021	mMol/l
2,3-DPG	1,81	1,90	2,07	1,69	mMol/l
Maltose	1,23	0,56	0,78	0,39	mMol/l

1B, Patient V. P.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	101	103	107	83	U/l
Pyruvat	9,05	19,01	90,50	34,39	µMol/l
Lactat	0,84	1,32	1,25	1,23	mMol/l
Glucose	3,87	12,51	7,35	5,57	mMol/l
G-6-P	28,49	22,97	5,70	22,79	mMol/ml
F-6-P	22,59				mMol/ml
PEP	0,025	0,041	0,031	0,037	mMol/l
2-PG	0,021	0,021	0,021	0,027	mMol/l
2,3-DPG	1,90	1,38	1,66	1,66	mMol/l
Maltose					mMol/l

2B, Patient G.L.:

Parameter	vor der	nach d.	24 Std. n.	72 Std. n.	Einheiten
Amylase	188	163	164	106	U/l
Pyruvat	49,78	43,44	207,25	109,51	µMol/l
Lactat	1,19	1,78	1,56	1,60	mMol/l
Glucose	5,07	6,03	5,58	5,56	mMol/l
G-6-P	28,49	25,64	14,25	51,29	mMol/ml
F-6-P	5,65				mMol/ml
PEP	0,051	0,029	0,049	0,043	mMol/l
2-PG	0,042	0,029	0,019	0,046	mMol/l
2,3-DPG	2,06	1,98	1,93	2,02	mMol/l
Maltose	0,23		1,05	1,16	mMol/l

3B, Patient M.V.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	87	91	126	98	U/l
Pyruvat	25,34	23,53	141,18	57,02	µMol/l
Lactat	0,72	0,76	1,49	0,79	mMol/l
Glucose	3,87	4,48	5,29	5,93	mMol/l
G-6-P	19,95	8,55	14,25	42,74	mMol/ml
F-6-P			14,12		mMol/ml
PEP	0,049	0,043	0,049	0,051	mMol/l
2-PG	0,035	0,048	0,029	0,054	mMol/l
2,3-DPG	1,98	1,84	2,11	1,99	mMol/l
Maltose	0,32		0,30	0,04	mMol/l

4B, Patient R.K.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	212	216	1276	1186	U/l
Pyruvat				40,73	µMol/l
Lactat	0,85	1,33	0,70	1,30	mMol/l
Glucose	5,42	8,93	6,22	8,92	mMol/l
G-6-P	19,95		19,95	22,79	mMol/ml
F-6-P	19,77		14,12		mMol/ml
PEP	0,033	0,042	0,042	0,057	mMol/l
2-PG	0,027	0,017	0,037	0,035	mMol/l
2,3-DPG	1,49	1,27	1,45	1,30	mMol/l
Maltose	1,02	0,96	0,53	0,41	mMol/l

5B, Patient B.W.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	189	186	189	117	U/l
Pyruvat			46,16	62,45	µMol/l
Lactat	0,88	0,69	0,60	0,72	mMol/l
Glucose	4,77	4,30	4,35	5,45	mMol/l
G-6-P	11,40	34,19	22,79	28,49	mMol/ml
F-6-P	14,12	22,59	14,12		mMol/ml
PEP	0,042	0,048	0,049	0,057	mMol/l
2-PG	0,017	0,039	0,031	0,035	mMol/l
2,3-DPG	1,69	1,56	1,56	1,73	mMol/l
Maltose	0,47	0,23	0,67	0,46	mMol/l

6B, Patient R.O.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	220	269	275	174	U/l
Pyruvat	228,06	132,13	117,65	66,07	µMol/l
Lactat	5,29	2,41	1,78	0,76	mMol/l
Glucose	6,01	9,77	5,48	4,08	mMol/l
G-6-P	37,04	28,49	25,64	34,19	mMol/ml
F-6-P	22,59	5,65	8,47	5,65	mMol/ml
PEP	0,029	0,039	0,037	0,022	mMol/l
2-PG	0,021	0,037	0,021	0,025	mMol/l
2,3-DPG	1,86	1,79	1,76	1,91	mMol/l
Maltose	0,70		2,45	1,63	mMol/l

7B, Patient B.A.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	93	98	115	78	U/l
Pyruvat	64,26	72,40	162,00	172,86	µMol/l
Lactat	1,92	3,13	2,60	3,43	mMol/l
Glucose	5,39	5,10	5,50	4,33	mMol/l
G-6-P				37,04	mMol/ml
F-6-P				22,59	mMol/ml
PEP	0,041	0,051	0,051	0,022	mMol/l
2-PG	0,031	0,019	0,040	0,010	mMol/l
2,3-DPG	2,38	1,89	1,77	1,95	mMol/l
Maltose	0,43	0,28	0,58	0,67	mMol/l

8B, Patient S.M.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	155	187	221	135	U/l
Pyruvat	84,17	55,21	166,52	90,50	µMol/l
Lactat	0,68	0,84	1,07	0,93	mMol/l
Glucose	5,17	4,70	7,29	5,61	mMol/l
G-6-P	5,65				mMol/ml
F-6-P	8,55				mMol/ml
PEP	0,049	0,065	0,039	0,012	mMol/l
2-PG	0,035	0,042	0,019	0,017	mMol/l
2,3-DPG	1,66	1,59	1,59	1,71	mMol/l
Maltose	1,19	0,73	1,47	0,69	mMol/l

9B, Patient B.H.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	132	178	172	128	U/l
Pyruvat	52,49	79,64	115,84	95,93	µMol/l
Lactat	0,70	1,25	1,19	0,98	mMol/l
Glucose	7,49	5,90	4,55	4,37	mMol/l
G-6-P		22,59			mMol/ml
F-6-P		5,70			mMol/ml
PEP	0,073	0,055	0,047	0,039	mMol/l
2-PG	0,042	0,037	0,023	0,025	mMol/l
2,3-DPG	1,86	2,11	2,25	2,15	mMol/l
Maltose	0,37	0,80	2,01	1,47	mMol/l

10B, Patient K.W.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	175	203	210	206	U/l
Pyruvat	28,30	33,67	164,94	23,20	µMol/l
Lactat	1,14	1,31	1,36	1,04	mMol/l
Glucose	4,56	5,86	5,60	6,47	mMol/l
G-6-P	14,25	19,94	22,79	11,40	mMol/ml
F-6-P			14,12		mMol/ml
PEP	0,043	0,037	0,045	0,018	mMol/l
2-PG	0,033	0,029	0,017	0,021	mMol/l
2,3-DPG	1,46	1,35	1,46	1,40	mMol/l
Maltose	0,90	0,16	0,85	0,87	mMol/l

11B, Patient M.K.:

Parameter	vor der Infusion	nach d. Inf.	24 Std. n. d. Inf.	72 Std. n. d. Inf.	Einheiten
Amylase	185	210	191	160	U/l
Pyruvat	18,06	41,97	201,54	18,42	µMol/l
Lactat	0,78	1,25	3,31	1,26	mMol/l
Glucose	13,61	6,43	4,36	5,16	mMol/l
G-6-P	22,79	11,40	22,79	11,40	mMol/ml
F-6-P			8,47		mMol/ml
PEP	0,033	0,020	0,039	0,039	mMol/l
2-PG	0,033	0,037	0,019	0,035	mMol/l
2,3-DPG	2,09	1,79	1,66	1,84	mMol/l
Maltose		0,79	0,39		mMol/l

Mittelwerte und Standardabweichungen (s) der gemessenen Parameter der Gruppe A

Parameter	vor der Infusion / s			nach der Infusion / s		
Amylase	161,4	±	68,7	203,0	±	58,7
Pyruvat	27,0	±	20,07	39,4	±	17,8
Lactat	0,9	±	0,36	1,04	±	0,26
Glucose	4,66	±	1,0	4,77	±	1,11
G-6-P	19,92	±	7,77	17,91	±	3,56
F-6-P	19,76	±	9,78	13,55	±	6,44
PEP	0,044	±	0,018	0,045	±	0,014
2-PG	0,032	±	0,019	0,035	±	0,017
2,3-DPG	2,0	±	0,23	1,588	±	0,332
Maltose	0,99	±	0,23	1,25	±	0,568

Parameter	24 Std. n. d. Inf. / s			72 Std. n. d. Inf. / s		
Amylase	324,0	±	129,27	183,0	±	76,1
Pyruvat	121,54	±	52,7	77,66	±	42,9
Lactat	1,52	±	0,67	0,98	±	0,48
Glucose	5,77	±	1,33	5,47	±	1,19
G-6-P	23,06	±	9,82	18,52	±	8,59
F-6-P	16,5	±	8,07	16,37	±	6,12
PEP	0,039	±	0,009	0,036	±	0,026
2-PG	0,032	±	0,018	0,026	±	0,009
2,3-DPG	1,68	±	0,343	1,82	±	0,303
Maltose	0,86	±	0,554	0,84	±	0,44

Mittelwerte und Standardabweichungen (s) der gemessenen Parameter der Gruppe B

Parameter	vor der Infusion / s			nach der Infusion / s		
Amylase	157,0	±	47,7	173,0	±	55,7
Pyruvat	41,4	±	22,53	55,66	±	35,17
Lactat	1,36	±	1,34	1,46	±	0,73
Glucose	5,93	±	2,72	6,73	±	2,59
G-6-P	20,89	±	9,67	21,72	±	8,47
F-6-P	15,54	±	7,29	11,31	±	9,76
PEP	0,0425	±	0,013	0,0427	±	0,012
2-PG	0,0163	±	0,017	0,032	±	0,01
2,3-DPG	1,86	±	0,27	1,69	±	0,28
Maltose	0,63	±	0,34	0,56	±	0,33

Parameter	24 Std. n. d. Inf. / s			72 Std. n. d. Inf. / s		
Amylase	177,0	±	52,1	128,0	±	41,2
Pyruvat	141,4	±	47,3	70,1	±	33,14
Lactat	1,47	±	0,8	1,27	±	0,76
Glucose	5,6	±	1,03	5,58	±	1,32
G-6-P	18,52	±	6,63	29,12	±	16,0
F-6-P	12,23	±	2,91	14,12	±	11,9
PEP	0,043	±	0,006	0,036	±	0,016
2-PG	0,025	±	0,008	0,03	±	0,013
2,3-DPG	1,75	±	0,082	1,79	±	0,26
Maltose	1,03	±	0,72	0,82	±	0,52

7. LITERATUR

1. William Metcalf, M.D., F.A.C.S., Aristotle papadopoulos, M.D., Rachel Tufaro, B.A. and Alexander Barth, B.S., New York:
A Clinical physiologic Study of Hydroxyethyl Starch.
Surgery, Gynecology and Obstetrics: 255 - 267 (8/1970)

2. M. Yoshida, t. Yamashita, J. Matsuo and T. Kishikawa, Shiga-ken (Japan):
Enzymic Degradation of Hydroxyethyl Starch.
Die Stärke 25. Jahrgang: 373 - 376 Nr. 11 (1937)

3. G. Lindblad and J. Falk, Uppsala:
Konzentrationsverlauf von Hydroxyäthylstärke und Dextran im Serum und Lebergwebe von Kaninchen und die histologischen Folgen der Speicherung von Hydroxyäthylstärke.
Infusionstherapie 3: 301 - 303 (1976)

4. W. Forth, D. Henschler, W. Rummel:
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
Wissenschaftsverlag B.I. 2. Auflage Mannheim., Wien, Zürich 134 (1977)

5. G. Kuschinsky und H. Lüllmann:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 8. Auflage 141 (1978)

6. W. Psyrembel:
Klinisches Wörterbuch.
Walter de Gruyter Berlin, New York (1957)

7. P. Karlson:
Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Georg Thieme Verlag Stuugart 9. Auflage 284 (1974)

8. E. Buddecke:
Grundriß der Boichemie.
Walter de Gruyter Berlin, New York 5. Aufl. 77, 412, 443 (1977)

9. H. Gofferje und V. Kozlik (Erlangen):
Zur Hyperamylasämie nach Infusion von Hydroxyäthylstärke unterschiedlicher Molekulargewichtsverteilungen.
Infusionstherapie 4: 141 - 144 (1977)

10. J.C. Boon, F. Jesch, J. Ring and K. Messmer:
Intravascular Persistence of Hydroxyethyl Starch in Man.
Eur. Surg. Res. (: 497 - 503 (1976)

11. H. Bauer, E. Burgis:
Spezielle Pharmakologie.
Mediscript-Verlag München 26 (1979)

12. M. Beez und H. Dietl:
Retrospektive Betrachtung der Häufigkeit anaphylaktoider Reaktionen nach Plasmasteril® und Longasteril®
Infusionstherapie 6: 23 - 26 (1979)

13. W.L. Thompson, M.D., Tsuneo Fukuschima, M.D., R.B. Rutherford, M.D., F.A.C.S. and R.P. Walton, M.D., Baltimore, Maryland:
Intravascular Persistence, Tissue Storage and Excretion of Hydroxyethyl Starch.
Surgery, Gynecology and Obstetrics, 965 - 972 (Nov. 1970)

14. Information der Firma Fresenius
6380 Bad Homburg Postfach 1480

15. C. Kori-Lindner und H. Hubert:
Klinische Erfahrungen mit einer 6%igen Hydroxyäthylstärke-40 000-Lösung, Kreislaufparameter, Verträglichkeit.
Infusionstherapie 5: 93 - 98 (1978)

16. W.L. Thompson, T. Fukuschima, R.B. Rutherford und R.P. Walton:
Intravascular Persistence, Gewebespeicherung und Ausscheidung von Hydroxyäthylstärke.
Infusionstherapie 6: 151 - 155 (1979)

17. F. Jesch, G. Hübner, V. Zumtobel, M. Zimmermann und K. Messmer:
Hydroxyäthylstärke (HÄS 450/0,7) in Plasma und Leber, Konzentrationsverlauf und histologische Veränderungen beim Menschen.
Infusionstherapie 6: 112 - 117 (1979)

18. K. Messmer, F. Jesch:
Volumenersatz und Hämodilution mit Hydroxyäthylstärke.
Infusionstherapie 5: 237 - 8 (Aug. 1978)

19. M.M. Nothman and A.D. Callow:
Investigations on the origin of amylase in Serum and Urine.
Gastroenterology 60: 82 (1971)

20. G. Herold, Dr. med:
Innere Medizin
Aku-Fotodruck, Agentur 5 Köln 41, 230 (1979 - 1980)

21. M. Locher:
Normalwerttabelle, Medizinische Universitätsklinik Tübingen (März 1978)

22. Arbeitsanleitung der Firma Phadebas Pharmacia Diagnostics AB:
Phadebas Amylase Test
Uppsala Schweden 93 - 986 - 1393 - 02

23. Arbeitsanleitung der Firma Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica:
Test-Combination-Pyruvat (3/1977)

24. Arbeitsanleitung der Firma Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica:
Test-Combination-Lactat (1/1977)

25. Arbeitsanleitung der Firma Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica:
GOD-Perid-Methode

26. H.U. Bergmeyer:
Methoden der enzymatischen Analyse, 2. Aufl. BI Verlag Chemie Weinheim/Bergstr. (1970)

27. D. Eberhagen:
α-Amylase-Bestimmungen
Med. Klinik 69: 1727 (1974)

Diese Arbeit wurde am Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionsmedizin (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. Schorer) Klinikum der Universität Tübingen vorgenommen.

Für die Stellung des Themas der vorliegenden Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. Hempel meinen besonders herzlichen Dank aussprechen. Die vielfältigen Hinweise, die er mir während der Arbeit gegeben hat, waren für diese Arbeit von großem Nutzen.

Herrn Prof. Dr. Heller, in dessem Laboratorium alle hier angeführten Messungen gemacht wurden, gilt mein bester Dank. Auch ihm verdanke ich viele wertvolle Ratschläge für diese Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 7. 1. 1949 wurde ich, Hussein Rajab, als Sohn des Taufik Rajab und seiner Ehefrau Wajiha Rajab, geb. Al-Bascha, in Yabroud (Syrien) geboren.

In Yabroud besuchte ich die Grundschule und in Damaskus das Gymnasium Jusef-Al-Asmah. Das Abitur bestand ich im Jahre 1967. Anschließend nahm ich das Studium der Zahnmedizin an der Universität Damaskus auf, welches ich 1972 mit dem Staatsexamen abschloß. Danach wurde ich dort an der Abteilung für Oralchirurgie als wissenschaftlicher Assistent angestellt.

Im Oktober 1973 kam ich nach Deutschland und lernte am Goethe-Institut in Lüneburg Deutsch.

Vom 1. 4. 1974 bis 30. 3. 1975 war ich an der Kieferklinik Hamburg und vom 1. 4. 1975 bis 30. 4. 1978 an der Abteilung für Kiefer- und Gesichtschirurgie in Tübingen tätig. Aufgrund dieser Fachausbildung habe ich am 19. 4. 1978 die Anerkennung als Oralchirurg erworben.

Am 25. 4. 1978 erlangte ich den Doktorgrad der Zahnheilkunde an der Universität Tübingen.

Bereits vorher, 1976, immatrikulierte ich mich im Fach Humanmedizin an der Universität Tübingen. Am 23. 4. 1982 bestand ich das Staatsexamen in Humanmedizin.

Seit 1978 bin ich mit meiner Gattin, Frau Dr. med. Maria Schubert-Rajab, geb. Schubert, verheiratet. Wir haben zwei Söhne.